



TESIS DOCTORAL

MUTACIÓN DEL GEN PIK3CA EN EL CARCINOMA EPIDERMÓIDE ORAL

María Pombo Castro

DEPARTAMENTO DE
CIRUGÍA Y ESPECIALIDADES MÉDICO-QUIRÚRGICAS
PROGRAMA DE CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA / LUGO

2017



TESIS DOCTORAL

MUTACIÓN DEL GEN PIK3CA EN EL CARCINOMA EPIDERMÓIDE ORAL

Fdo.

María Pombo Castro

DEPARTAMENTO DE
CIRUGÍA Y ESPECIALIDADES MÉDICO-QUIRÚRGICAS
PROGRAMA DE CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2017



D. José Luis López-Cedrún Cembranos, Jefe de Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial del
Complejo Hospitalario Universitario A Coruña,
como Director,

y

D. Juan Seoane Lestón, Profesor Titular de la Universidad de Santiago de Compostela, adscrito al Departamento de Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas
como Tutor,
de la Tesis Doctoral titulada

«MUTACIÓN DEL GEN PIK3CA EN EL CARCINOMA EPIDERMÓIDE ORAL»

Presentada por Dña. María Pombo Castro

Alumna del Programa de Doctorado de
CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

Autorizan la presentación de la tesis indicada, considerando que reúne los requisitos exigidos en el artículo 34 del reglamento de Estudios de Doctorado, y que como Director de la misma no incurre en las causas de abstención establecidas en la ley 40/2015.

Fdo. José Luis López-Cedrún

Fdo. Juan Seoane Lestón



RESUMO

PIK3CA é un dos xens máis frecuentemente alterados no carcinoma epidermoide oral (CEO), polo que podería considerarse unha posible diana terapéutica. O noso obxectivo é averiguar a frecuencia de mutación e amplificación de PIK3CA no CEO na nosa poboación, e se existe algunha relación entre este feito e as variables clínicas ou a supervivencia.

Incluíronse 98 doentes (31 lesións precancerosas e 67 carcinomas). A porcentaxe de mutacións foi 18,5% en carcinomas e 22,6% en lesións precancerosas. A porcentaxe de amplificación foi 32,3% en carcinomas e 19,2% en lesións precancerosas. Un 43,7% de carcinomas e 39,3% de lesións precancerosas presentaron alomenos unha das alteracións. Nun 6,5% de carcinomas e 4,6% de lesións precancerosas coexistiron ambas alteracións.

Na análise bivariante non atopamos asociacións estadisticamente significativas entre as variables clínicas e a mutación ou amplificación de PIK3CA, salvo co Charlson (factor protector) en carcinomas. A porcentaxe de estadios avanzados foi maior en doentes con alteracións PIK3A (non significativo). En canto ás variables relacionadas coa evolución, globalmente observamos unha clara tendencia a un peor pronóstico nos doentes con mutación ou amplificación de PIK3CA, inda que a única asociación estadisticamente significativa foi entre a recidiva e a amplificación de PIK3CA.

PALABRAS CHAVE

Carcinoma epidermoide oral, PIK3CA, mutación, amplificación

RESUMEN

PIK3CA es uno de los genes más frecuentemente alterados en el carcinoma epidermoide oral (CEO), por lo que podría considerarse una posible diana terapéutica. Nuestro objetivo es averiguar la frecuencia de mutación y amplificación de PIK3CA en el CEO en nuestra población, y si existe alguna relación entre este hecho y las variables clínicas o la supervivencia.

Se incluyeron 98 pacientes (31 lesiones precancerosas y 67 carcinomas). El porcentaje de mutaciones fue 18,5% en carcinomas y 22,6% en lesiones precancerosas. El porcentaje de amplificación fue 32,3% en carcinomas y 19,2% en lesiones precancerosas. Un 43,7% de carcinomas y 39,3% de lesiones precancerosas presentaron al menos una de las alteraciones. En un 6,5% de carcinomas y 4,6% de lesiones precancerosas coexistieron ambas alteraciones.

En el análisis bivariante no encontramos asociaciones estadísticamente significativas entre las variables clínicas y la mutación o amplificación de PIK3CA, salvo con el Charlson (factor protector) en carcinomas. El porcentaje de estadios avanzados fue mayor en pacientes con alteraciones PIK3A (no significativo). En cuanto a las variables relacionadas con la evolución, globalmente observamos una clara tendencia a un peor pronóstico en los pacientes con mutación o amplificación de PIK3CA, aunque la única asociación estadísticamente significativa fue entre la recidiva y la amplificación de PIK3CA.

PALABRAS CLAVE

Carcinoma epidermoide oral, PIK3CA, mutación, amplificación

SUMMARY

PIK3CA is one of the most frequently altered genes in oral cancer. It could be used as a target. Our aim is to know the frequency of PIK3CA mutation and amplification in oral cancer in our population, and if it exists some relation between this fact and clinical variables or survival.

We included 98 patients (31 premalignant lesions and 67 carcinomas). Mutation rate was 18,5% in carcinomas and 22,6% in premalignant lesions. Amplification rate was 32,3% in carcinomas and 19,2% in premalignant lesions. 43,7% of carcinomas and 39,3% of premalignant lesions had at least one of the alterations, and 6,5% of carcinomas and 4,6% of premalignant lesions had both.

In the bivariate analysis we did not found statistically significant associations between clinical variables and PIK3CA mutation or amplification, except with Charlson index. (protective factor) in carcinomas. The percentage of advanced stages was higher in patients with PIK3CA alterations (not significant). In relation to prognostic variables, we observed a trend to worse prognosis in patients with PIK3CA alterations, but the only statistically significant association was between recurrence and PIK3CA amplification.

KEY WORDS

Oral cancer, PIK3CA, mutation, amplification

Este trabajo ha sido presentado como comunicación o poster en los siguientes congresos:

- MUTATION IN PIK3CA ONCOGENE IN ORAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA: OUR RESULTS IN A SERIES OF 99 PATIENTS. Pombo M, López-Cedrún JL, Escudero R, Hernández G, Arenaz J, Luaces R. 21th Congress of the European Association for Cranio-maxillo-facial Surgery. Dubrovnik. Septiembre 2012.

- IMPLICACIONES PRONÓSTICAS DE LA MUTACIÓN DEL ONCOGÉN PIK3CA EN EL CARCINOMA EPIDERMÓIDE ORAL. Pombo M, Chávez V, Escudero R, Dueñas M, Carral N, Gálvez F, López-Cedrún J. XI Reunión de la Academia Iberoamericana de Patología y Medicina Bucal. Santiago de Compostela. Mayo 2013.

- CAMBIOS GENÉTICOS EN PIK3CA EN LESIONES PRECANCEROSAS Y CARCINOMA EPIDERMÓIDE ORAL EN LA POBLACIÓN GALEGA: FRECUENCIA Y RELACIÓN CON LAS VARIABLES CLÍNICAS (póster). Pombo M, González-Mourelle A, Gálvez F, Méndez I, García-Escudero R, López-Cedrún JL. 23 Congreso Nacional de la Sociedad Española de Cirugía Oral y Maxilofacial. Oviedo. Junio 2015.



**A meus pais e meus irmáns, por estar sempre aí
e ser os pilares da miña vida;
e a Raúl, por aparecer para ficar para sempre ó meu lado
e acompañarme neste camiño que, xuntos,
resulta inmensamente máis agradable de percorrer.**



AGRADECIMIENTOS

Antes de nada, gustaríame facer fincapé en toda a axuda recibida por parte daquelas persoas que non tiñan ningún compromiso con este traballo e a pesar diso colaboraron comigo altruistamente, dun xeito ou doutro. Espero terlle feito sentir a miña máis sincera gratitude.

En primeiro lugar, dar as grazas ó meu Director de Tese e Xefe de Servizo, Jose Luis López-Cedrún, por permitirme formar parte do seu equipo durante estes anos e por animarme e empuxarme a embarcar neste longo e duro camiño que supón converterse en Doutor en Medicina.

Agradecer ó meu titor, Juan Luis Seoane, toda a súa axuda e xenerosidade solventando as miñas dúbidas e colaborando en todos os trámites precisos para poder levar ó seu fin este traballo.

Quero facer unha mención especial ó Departamento de Estadística do CHU A Coruña, pola súa amabilidade en todo momento; especialmente a Vanesa Balboa, que tantas horas adicou a este estudo, incluso do seu tempo libre. Grazas por esa dispoñibilidade absoluta, sen a túa axuda non o conseguiría.

Grazas a Roberto Álvarez, do Departamento de Anatomía Patolóxica do CHUAC, por atender as miñas peticións, sempre de boa gana.

A María Sobrido, do Departamento de Biblioteca do CHU A Coruña, por axudarme a poñer en marcha isto coas súas recomendacións e consellos.

A Iria González, por un fin de semana de moito esforzo e pouco descanso para que poidese cumprir cos prazos. Moitísimas grazas.

A Ramón García-Escudero e a Corina Lorz, por axudarme coa análise xenómica e con todas as dúbidas que me foron surxindo.

Grazas a Fernanda Lorenzo, por ser “unha nai maxilofacial”; por todo o que me ensinaches nestes nove anos; por todos os consellos que tan útiles me foron, tanto no traballo como na vida mesma. Por alegrarte cada vez que me ves. Por alegrarme cada vez que te vexo. Nada será o mesmo cando te xubiles.

A Inés Vázquez, por... TODO. Por estar aí sexa o que sexa o que necesite. Por ser un exemplo de profesionalidade e de algo máis que iso; por ensinarme gran parte do que son como cirurxán maxilofacial; por apoiarme, por preocuparte, por aconsellarme... por estar de día... e de noite. Non teño palabras.

Como non, a Alicia; por ser un soplo de aire fresco. Por ser o compromiso, a adicación e a lealtade personificadas. Por cubrirme para poder rematar este traballo, por sacarme de apuros, por preocuparse tanto por min, por axudarme en TODO... e por aparecer na miña vida tamén fóra do Hospital.

A Raquel e a Teresa, por estar sempre “aí onde outros non chegan”. Por esa axuda tan necesaria que ás veces non é tan visible pero que resulta tan valiosa. Por insistirme en contar ata dez... ou trinta. Por aguantarme nos meus malos momentos sen poñer malas caras e porque, xunto con outras persoas especiais, fan o día a día no traballo moito máis levadeiro.

Por último, quero darlle ás grazas ás persoas máis importantes da miña vida, que da súa maneira tamén axudaron (e moito) a que poidese levar a cabo este proxecto. E que sufriron máis que ninguén esta tese (tamén para eles este momento será un gran alivio). A meus pais, porque todo o que teño e todo o que son llo debo a eles; por todos os sacrificios que fixeron para que poidese estar onde estou. Por quererme dese xeito que só eles saben. Por perdoarme os meus erros e defectos e, a pesar deles, seguir queréndome incondicionalmente. A meus irmáns, polo seu cariño infinito; porque son irremplazables, por acompañarme dende sempre, por compartilo todo comigo... e a Moncho por todas esas tarefas (informáticas e non informáticas) que sempre chegan a última hora e con présa... pero que teñen sempre a mesma resposta, o que precise; e por aguantar o meu mal humor cando as cousas non saen como me gusta.... Á pequena Daniela, que me acompañou durante tantas horas de biblioteca e escritorio, recordándome coas súas patadiñas as atencións que lle estaba roubando; por ser parte da miña motivación para rematar esta tese doutoral. E finalmente a Raúl, por ser a guinda que a vida me tiña preparada; por todas esas horas que che roubei para poder chegar ata este momento; por escoitarme, apoiarme, por nunca deixar de animarme cando custaba manter os ánimos. Por ser o meu complemento perfecto, o meu mellor amigo, o meu fogar. Grazas.



ÍNDICE

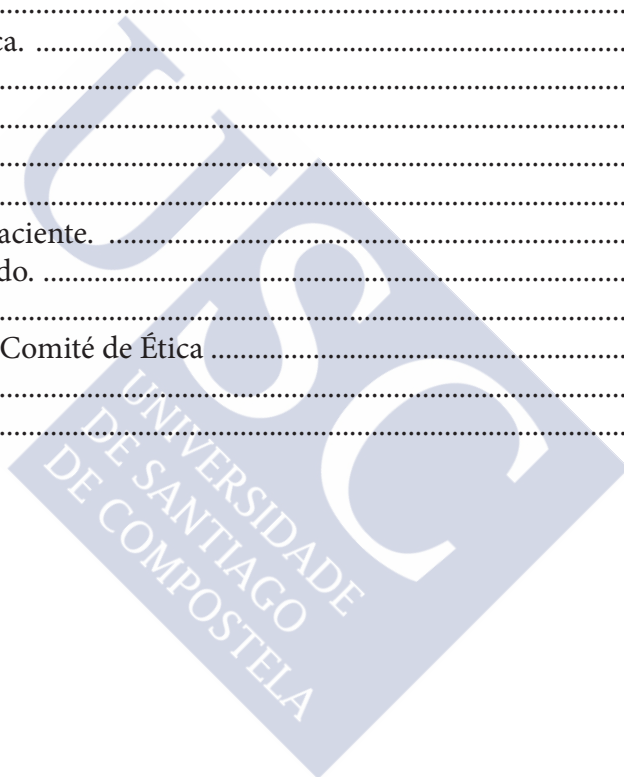
1.INTRODUCCIÓN	21
2.REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	25
2.1.CARCINOMA EPIDERMOIDE ORAL. GENERALIDADES	25
2.1.1.EPIDEMIOLOGÍA	25
2.1.1.1.Edad.	33
2.1.1.2.Sexo.	33
2.1.1.3.Estatus socioeconómico.	34
2.1.1.4.Localización anatómica.	34
2.1.2.ETIOLOGÍA:	35
2.1.2.1.Tabaco.	36
2.1.2.2.Betel quid.	37
2.1.2.3.Alcohol.	37
2.1.2.4.Marihuana.	36
2.1.2.5.Infección por el virus del papiloma humano.	38
2.1.2.6.Dieta	38
2.1.2.7.Estatus socioeconómico.	39
2.1.2.8.Inmunosupresión.	39
2.1.2.9.Mate.	40
2.1.2.10.Higiene oral.	40
2.1.2.11.Predisposición genética.	40
2.1.2.12.Radiación ultravioleta.	41
2.1.2.13.Radiación ionizante.	41
2.1.3.CLÍNICA	41
2.1.3.1.Lesiones precancerosas y condiciones precancerosas.	41
2.1.3.2.Formas de presentación clínica.	44
2.1.3.3.Evolución clínica	46
2.1.4.DIAGNÓSTICO	48
2.1.5.ESTADIAJE	52
2.1.6.TRATAMIENTO	54
2.1.6.1.Cirugía.	55
2.1.6.1.1.Resección tumoral.	55
2.1.6.1.2.Disección cervical.	58
2.1.6.1.3.Reconstrucción del defecto oncológico.	63
2.1.6.2.Radioterapia.	64
2.1.6.3.Quimioterapia.	66
2.2 EL ONCOGÉN PIK3CA	71
2.2.1.PIK3CA EN DISTINTOS CÁNCERES HUMANOS	73
2.2.2.PIK3CA EN EL CARCINOMA EPIDERMOIDE DE CABEZA Y CUELLO.	80
2.2.3.PIK3CA EN EL CARCINOMA EPIDERMOIDE ORAL.	84
3.JUSTIFICACIÓN/HIPÓTESIS DE TRABAJO	89
4.OBJETIVOS	93
4.2.Generales:	93
4.3.Secundarios:	93
5.MATERIAL Y MÉTODOS	97
5.2.ÁMBITO	97
5.3.PERÍODO	97

5.4.TIPO DE ESTUDIO	97
5.5.SELECCIÓN DE PACIENTES	97
5.5.1.Criterios de inclusión	98
5.5.2.Criterios de exclusión	98
5.6.PROCEDIMIENTO	98
5.6.1.Recogida de datos	98
5.6.2.Toma de las muestras	98
5.6.3.Procesamiento de las muestras	98
5.6.4.Análisis de las muestras	99
5.6.5.Clasificación y seguimiento de los paciente	100
5.7.DEFINICIÓN Y CODIFICACIÓN DE VARIABLES	100
5.7.1.Variables demográficas	100
5.7.2.Variables relacionadas con la etiología.	101
5.7.3.Variables clínicas	102
5.7.4.Variables relacionadas con el tratamiento	103
5.7.5.Variables relacionadas con el análisis histológico	105
5.7.6.Variables relacionadas con el análisis genómico	108
5.7.7.Variables relacionadas con la evolución del paciente y la enfermedad	108
5.8.MÉTODO ESTADÍSTICO	111
5.9.MÉTODO BIBLIOGRÁFICO	111
5.10.ASPECTOS ÉTICO-LEGALES	112
5.11.LIMITACIONES DEL ESTUDIO	112
6.RESULTADOS	115
6.1.Estudio descriptivo.	115
6.1.1.Del total de la muestra.	115
6.1.1.1.Variables demográficas.	116
6.1.1.2.Variables etiológicas.	116
6.1.1.3.Variables clínicas.	117
6.1.1.4.Variables relacionadas con el análisis genómico.	118
6.1.1.5.Variables relacionadas con la evolución.	120
6.1.2.Del grupo: lesiones precancerosas.	121
6.1.2.1.Variables demográficas.	122
6.1.2.2.Variables etiológicas.	122
6.1.2.3.Variables clínicas.	122
6.1.2.4.Variables relacionadas con el análisis genómico.	124
6.1.2.5.Variables relacionadas con la evolución.	126
6.1.3. Del grupo: carcinomas epidermoides.	127
6.1.3.1. Variables demográficas.	127
6.1.3.2. Variables etiológicas.....	128
6.1.3.3. Variables clínicas.	129
6.1.3.4. Variables relacionadas con el tratamiento.	131
6.1.3.5. Variables relacionadas con el análisis histológico.	133
6.1.3.6. Variables relacionadas con el análisis genómico.	137
6.1.3.7. Variables relacionadas con la evolución.	139
6.2. Análisis bivalente: asociación entre variables.	141
6.2.1.Comparación entre presencia y ausencia de mutación.	141
6.2.1.1.Para la muestra global.	141

6.2.1.1.1.Variables demográficas.	141
6.2.1.1.2.Variables etiológicas.	141
6.2.1.1.3.Variables clínicas.	142
6.2.1.1.4.Variables relacionadas con el estudio genómico.	142
6.2.1.1.5.Variables relacionadas con la evolución.	143
6.2.1.1.6.Análisis multivariante.	144
6.2.1.2.Para lesiones precancerosas.	145
6.2.1.2.1.Variables demográficas.	145
6.2.1.2.2.Variables etiológicas.	145
6.2.1.2.3.Variables clínicas.	146
6.2.1.2.4.Variables relacionadas con el estudio genómico.	146
6.2.1.2.5.Variables relacionadas con la evolución.	147
6.2.1.2.6.Análisis multivariante.	147
6.2.1.3.Para carcinomas epidermoides.	148
6.2.1.3.1.Variables demográficas.	148
6.2.1.3.2.Variables etiológicas.	148
6.2.1.3.3.Variables clínicas.	149
6.2.1.3.4.Variables relacionadas con el tratamiento.	150
6.2.1.3.5.Variables relacionadas con el estudio histológico.	151
6.2.1.3.6.Variables relacionadas con el estudio genómico.	152
6.2.1.3.7.Variables relacionadas con la evolución.	152
6.2.1.3.8.Análisis multivariante.	154
6.2.2.Comparación entre presencia y ausencia de amplificación.	155
6.2.2.1.Para la muestra global.	155
6.2.2.1.1.Variables demográficas.	155
6.2.2.1.2.Variables etiológicas.	155
6.2.2.1.3.Variables clínicas.	156
6.2.2.1.4.Variables relacionadas con el estudio genómico.	156
6.2.2.1.5.Variables relacionadas con la evolución.	157
6.2.2.1.6.Análisis multivariante.	158
6.2.2.2.Para lesiones precancerosas.	158
6.2.2.2.1.Variables demográficas.	158
6.2.2.2.2.Variables etiológicas.	159
6.2.2.2.3.Variables clínicas.	159
6.2.2.2.4.Variables relacionadas con el estudio genómico.	160
6.2.2.2.5.Variables relacionadas con la evolución.	160
6.2.2.2.6.Análisis multivariante.	161
6.2.2.3.Para carcinomas epidermoides.	161
6.2.2.3.1.Variables demográficas.	161
6.2.2.3.2.Variables etiológicas.	161
6.2.2.3.3.Variables clínicas.	162
6.2.2.3.4.Variables relacionadas con el tratamiento.	163
6.2.2.3.5.Variables relacionadas con el estudio histológico.	164
6.2.2.3.6.Variables relacionadas con el estudio genómico.	165
6.2.2.3.7.Variables relacionadas con la evolución.	166
6.2.2.3.8.Análisis multivariante.	167

6.2.3.Comparación entre presencia y ausencia de cambios genéticos en PIK3CA (mutación o amplificación).	168
6.2.3.1.Para la muestra global.	168
6.2.3.1.1.Variables demográficas.	168
6.2.3.1.2.Variables etiológicas.	168
6.2.3.1.3.Variables clínicas.	169
6.2.3.1.4.Variables relacionadas con la evolución.....	170
6.2.3.1.5.Análisis multivariante.	170
6.2.3.2.Para lesiones precancerosas.	171
6.2.3.2.1.Variables demográficas.	171
6.2.3.2.2.Variables etiológicas.	172
6.2.3.2.3.Variables clínicas.	172
6.2.3.2.4.Variables relacionadas con la evolución.	173
6.2.3.2.5.Análisis multivariante.	174
6.2.3.3.Para carcinomas epidermoides.	174
6.2.3.3.1.Variables demográficas.	174
6.2.3.3.2.Variables etiológicas.	175
6.2.3.3.3.Variables clínicas.	176
6.2.3.3.4.Variables relacionadas con el tratamiento.	177
6.2.3.3.5.Variables relacionadas con el estudio histológico.	178
6.2.3.3.6.Variables relacionadas con la evolución.	179
6.2.3.3.7.Análisis multivariante.	180
6.3.Análisis de supervivencia (para el grupo de carcinomas epidermoides).	181
6.3.1.Supervivencia global.	181
6.3.1.1.Variables demográficas.	181
6.3.1.2.Variables relacionadas con los factores de riesgo.	182
6.3.1.3.Variables clínicas.	182
6.3.1.4.Variables relacionadas con el tratamiento.	183
6.3.1.5.Variables relacionadas con el análisis histológico.	184
6.3.1.6.Variables relacionadas con el análisis genómico.	185
6.3.1.7.Variables relacionadas con la evolución.	185
6.3.1.8.ANÁLISIS MULTIVARIANTE	186
6.3.2.Supervivencia específica.	187
6.3.2.1.Variables demográficas.	187
6.3.2.2.Variables relacionadas etiológicas.	188
6.3.2.3.Variables clínicas.	188
6.3.2.4.Variables relacionadas con el tratamiento.	189
6.3.2.5.Variables relacionadas con el estudio histológico.	191
6.3.2.6.Variables relacionadas con el estudio genómico.	191
6.3.2.7.Variables relacionadas con la evolución.	191
6.3.2.8.Análisis multivariante	192
6.3.3.Recidiva.	193
6.3.3.1.Variables demográficas.	193
6.3.3.2.Variables etiológicas.	194
6.3.3.3.Variables clínicas.	194
6.3.3.4.Varibles relacionadas con el tratamiento.	195
6.3.3.5.Variables relacionadas con el estudio histológico.	196

6.3.3.6.Variables relacionadas con el estudio genómico.	197
6.3.3.7.Análisis multivariante.	198
7.DISCUSIÓN	201
7.1.De la frecuencia de mutaciones y amplificaciones en el gen PIK3CA.	201
7.2.De la asociación entre variables y la presencia de mutación/amplificación.	206
7.2.1.Variables demográficas.	206
7.2.2.Variables etiológicas.	206
7.2.3.Variables clínicas.	206
7.2.4.Variables de tratamiento.	207
7.2.5.Variables relacionadas con el análisis histológico.	207
7.2.6.Variables relacionadas con el análisis genómico.	208
7.2.7.Variables relacionadas con la evolución.	208
7.3De la supervivencia.	210
7.3.1.Supervivencia global.	210
7.3.2.Supervivencia específica.	210
7.3.3.Recidiva.	211
8.CONCLUSIONES	215
9.BIBLIOGRAFÍA	219
10.ANEXOS	261
10.1.Hoja de información al paciente.	261
10.2.Consentimiento informado.	265
10.3Índice de Charlson.	266
10.4Aprobación por parte del Comité de Ética	267
11.ÍNDICE DE TABLAS	271
12.ÍNDICE DE FIGURAS	281



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

ADN: ácido desoxirribonucleico
SEOM: Sociedad de Oncología Médica
IARC: Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer
OMS: Organización Mundial de la Salud
VPH: virus del papiloma humano
CECC: carcinoma epidermoide de cabeza y cuello
AF: anemia de Fanconi
LVP: leucoplasia verrucosa proliferativa
CEO: carcinoma epidermoide oral
CE: carcinoma epidermoide
STP: segundos tumores primarios
PAAF: punción-aspiración con aguja fina
EMA: antígeno epitelial de membrana
TC: tomografía computerizada
RM: resonancia magnética
PET: tomografía de emisión de positrones
UICC: International Union Against Cancer
AJCC: American Joint Committee on Cancer
SLNB: biopsia de ganglio linfático centinela
VPN: valor predictivo negativo
SENT: Sentinel European Node Trial
CHART: radioterapia continua acelerada hiperfraccionada
IMRT: radioterapia de intensidad modulada
5-FU: 5-fluoracilo
RT: radioterapia
TPF: docetaxel-cisplatino-5FU
EGFR: receptor del factor de crecimiento epidérmico
PI3K: fosfatidilinositol 3-quinasa
RBD: dominio RAS-ligando
P85BD: dominio N-terminal para ligar p85
RTK: receptores tirosín-quinasa
PIP3: fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato
PKB: proteína-quinasa B
PTEN: fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato 3-fosfatasa
PIP2: fosfatidilinositol 4,5-bifosfato
MGMT: 06-metilguanina-ADN metil-transferasa
ER: receptor de estrógenos
PR: receptor de progesterona
FGFR3: receptor 3 del factor de crecimiento fibroblástico
mTOR: mammalian target of rapamycin
MAPk: mitogen-activated protein kinase
JAK: Janus kinase
STAT: signal transducer and activator of transcription
CDKN2A: inhibidor 2^a de cinasa dependiente de ciclina
TGF- β : factor de crecimiento transformante beta.
IR: receptor de insulina
CIEMAT: Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas
CNV: variación en el número de copias
LOH: pérdida de heterocigosidad
IGV: Integrative Genomics Viewer
VIH: virus de inmunodeficiencia humana



1. INTRODUCCIÓN



1 INTRODUCCIÓN

El cáncer agrupa a un número de enfermedades caracterizadas por el crecimiento excesivo y descontrolado de células que invaden y dañan los tejidos del organismo, lo que conduce, en muchos casos, a la muerte del individuo, constituyendo la segunda causa de mortalidad en los países desarrollados. El cáncer se caracteriza por la adquisición por parte de las células de una serie de características: crecimiento descontrolado, evasión de procesos de senescencia y apoptosis, inducción y mantenimiento de procesos angiogénicos y capacidad de migrar y anidar en otras localizaciones del organismo generando metástasis (1). Todos estos procesos presentan un origen genético que surge como consecuencia de mutaciones en genes supresores de tumores, protooncogenes y/o genes implicados en procesos de reparación del ácido desoxirribonucleico (ADN) (1). En las últimas décadas, el conocimiento de los mecanismos moleculares del cáncer ha avanzado significativamente, y se han ido descifrando parte de las rutas que subyacen a cada una de las características de las células tumorales. Sin embargo, sólo una pequeña parte de este conocimiento ha conseguido aplicarse clínicamente en el tratamiento de pacientes.

El carcinoma epidermoide de la cavidad oral es el sexto (2) tipo de cáncer más común a nivel mundial y la 13ª causa de muerte (3). Los principales factores de riesgo para padecerlo son el tabaco, el alcohol y la infección por el virus del papiloma humano. A pesar de los avances en las distintas variantes terapéuticas (cirugía, radioterapia y quimioterapia) (4-8), la supervivencia global apenas se ha modificado, con un 50% de los pacientes aproximadamente vivos a los 5 años.

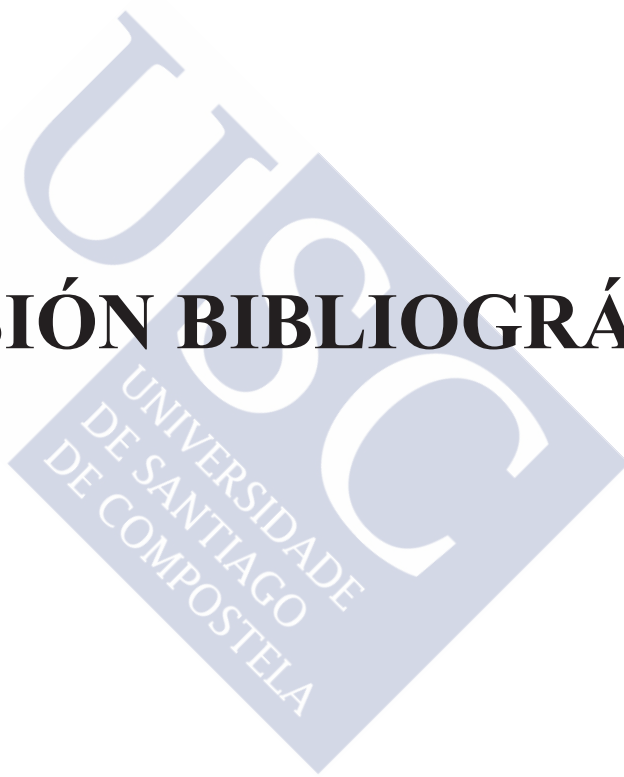
En los últimos años, se ha producido un avance importante en la determinación de las bases genéticas de la carcinogénesis del carcinoma epidermoide oral, habiéndose establecido que este cáncer aparece como consecuencia de la acumulación de alteraciones genéticas en proto-oncogenes y genes supresores de tumores (9, 10). Renan postuló, ya en el 1993, que el carcinoma epidermoide de cabeza y cuello aparecía tras el acúmulo de 6 a 10 alteraciones genéticas independientes (11), aunque no está claro todavía qué cambios son requisitos para la formación y progresión del cáncer y cuáles simplemente se van acumulando como resultado de un genoma cada vez más inestable.

También se ha demostrado que los biochips de expresión génica son una herramienta muy buena para la clasificación de los cánceres humanos (12). La relación de estos parámetros biológicos con otras variables clínicas (como la resistencia o respuesta a terapias, datos histológicos, datos de supervivencia...) permitiría estratificar a los pacientes con mayor riesgo de recurrencia o metástasis, además de permitirnos averiguar qué genes o rutas de señalización podrían representar una diana para la terapia génica antitumoral (12). Además, estos biochips han sido utilizados con éxito para desarrollar test que nos permiten pronosticar el comportamiento clínico de tumores primarios con gran precisión. Algunos de estos test se están evaluando en ensayos clínicos. Por otro lado, modelos celulares y animales de cáncer humano pueden ser evaluados a escala genómica mediante comparación de los perfiles de

expresión con los de sus equivalentes humanos. Esta validación permitiría su uso como herramientas para análisis preclínico de terapias dirigidas. Por tanto, los biochips de expresión génica constituyen una herramienta enormemente útil que, en un futuro cercano, permitirá un tratamiento mejor y más personalizado de los pacientes con cáncer.



2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA





2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 CARCINOMA EPIDERMOIDE ORAL. GENERALIDADES

2.1.1 Epidemiología

El cáncer de la cavidad oral es el 11º cáncer en frecuencia a nivel mundial (3). Dos terceras partes de los casos se producen en países en desarrollo (13). Si consideramos en conjunto los cánceres de cavidad oral y orofaringe, se sitúan en el sexto lugar en frecuencia a nivel mundial (14-17). Cada año se diagnostican 650.000 nuevos casos y se producen 350.000 muertes en el mundo por cáncer oral (18, 19). Cada año, la Sociedad Americana del Cáncer estima el número de casos nuevos de cáncer y el número de muertes por cáncer que se esperan para el año en curso. En el 2016, estimaron que en los EE.UU. se diagnosticarían 48330 nuevos casos de cáncer de la cavidad oral (34780 en varones y 13550 en mujeres); y que se producirían un total de 9570 muertes por cáncer de la cavidad oral (6910 en varones y 2660 en mujeres); así, el cáncer de cavidad oral se situaría en EE.UU. en el octavo puesto para los cánceres más frecuentes en varones, representando un 4% de todos los cánceres (20). En España, las cifras del cáncer son editadas cada año por la Sociedad de Oncología Médica (SEOM), que aporta datos sobre incidencia, prevalencia y mortalidad de los cánceres más frecuentes. Por otra parte, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), organismo de la Organización Mundial de la Salud (OMS) especializado para el cáncer, acaba de publicar el informe GLOBOCAN 2012 (<http://globocan.iarc.fr>), que nos proporciona datos sobre incidencia, prevalencia a 1, 3 y 5 años y mortalidad por cáncer a nivel mundial, de los 28 tipos más frecuentes de cánceres de 184 países. Este informe nos ofrece datos globales y por países y regiones, según el sexo, y nos ofrece además predicciones hasta 20 años. Este informe nos ofrece datos también sobre España, considerando para la misma una población de 46.771.000 habitantes (21-23). Estas son las cifras de cáncer de cavidad oral y labio en España en el 2012:

- La incidencia fue de 4098 casos nuevos (1219 mujeres, 2879 varones). Esto equivaldría a 4,72 nuevos casos por cada 100.000 habitantes (7,38 si consideramos sólo varones y 2,32 si consideramos sólo mujeres).
- La prevalencia a 5 años para ambos sexos fue de 11811 (3361 mujeres, 8450 varones). Esto equivaldría a 29,8 casos cada 100.000 habitantes (43,45 si consideramos sólo varones, 16,65 si consideramos sólo mujeres).
- La mortalidad fue de 1117 (251 mujeres, 766 varones). Esto equivaldría a 1,2 muertes por cada 100.000 habitantes (1,9 si consideramos sólo varones y 0,57 si consideramos sólo mujeres).

Así, en España, el cáncer de labio y cavidad oral ocuparía el 14º puesto en incidencia y el 19º en mortalidad, si consideramos ambos sexos en conjunto; el 12º puesto en incidencia y el 15º en mortalidad, en varones; y el 17º puesto en incidencia y el 18º en mortalidad, en mujeres.

Si comparamos los datos de España con el resto de países de Europa y del mundo podemos observar lo siguiente:

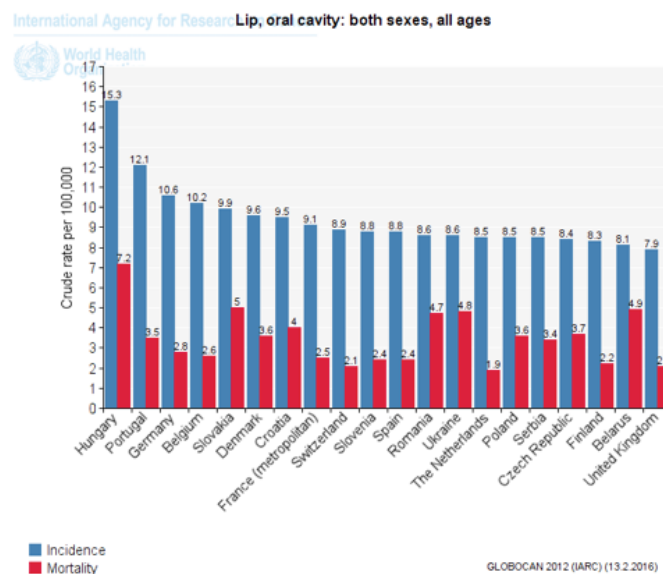
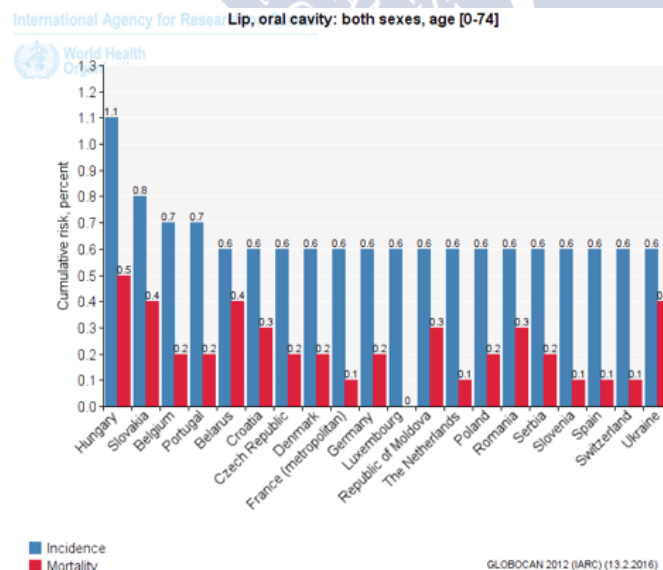
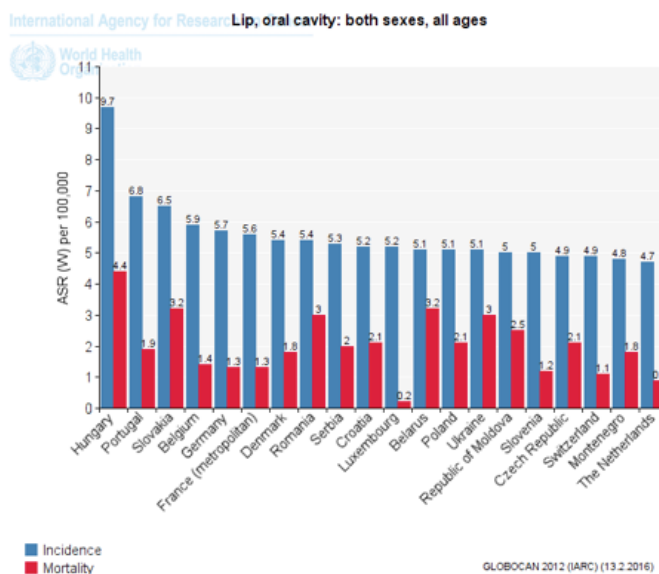


Figura 1. Incidencia y mortalidad de cáncer de labio y cavidad oral en los países europeos (tasa por cada 100.000 habitantes)

- España ocupó en el 2012 el 11º puesto en incidencia de cáncer de labio y cavidad oral (tasa por cada 100.000 habitantes) dentro de los países europeos (figura 1).





Figuras 2 y 3. Riesgo acumulado y el riesgo estandarizado por edad de cáncer de labio y cavidad oral en los distintos países de Europa

- Estas serían las mismas gráficas pero considerando el riesgo acumulado y el riesgo estandarizado por edad (figuras 2 y 3). Vemos que salvo países como Hungría, Eslovaquia, Bélgica y Portugal, el resto de países presentan riesgos similares en cuanto a la incidencia.

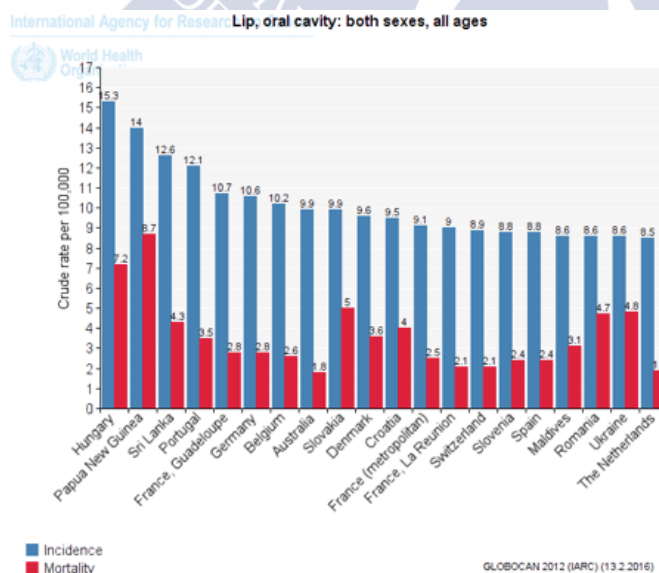
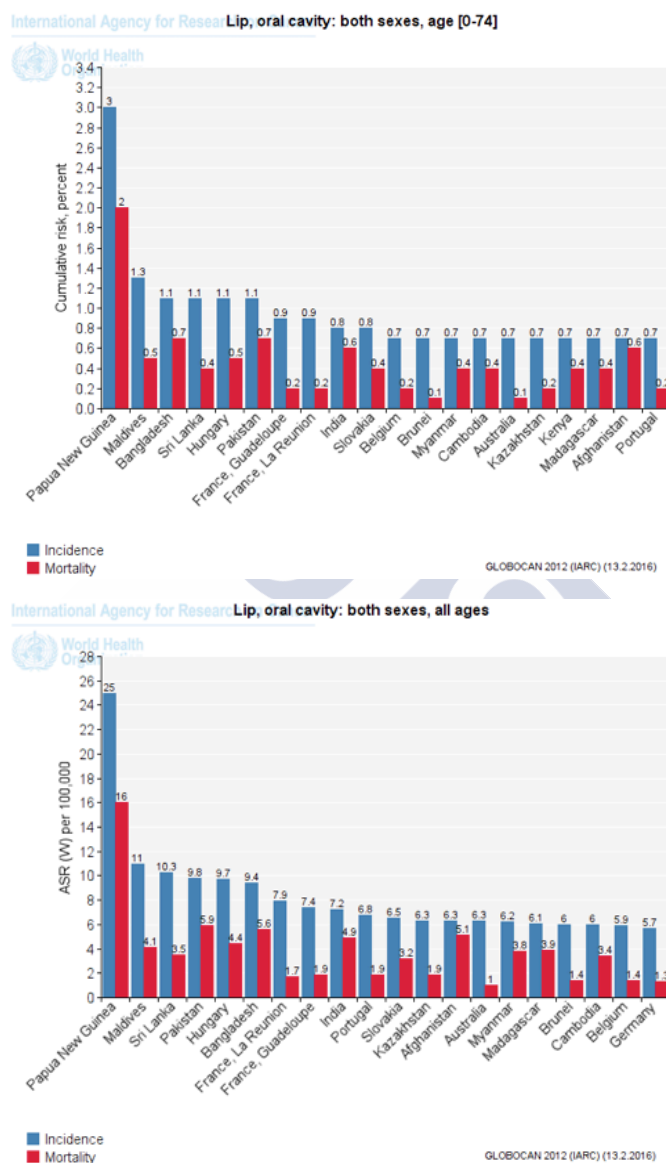


Figura 4. Incidencia de cáncer de labio y cavidad oral en a nivel mundial (tasa por cada 100.000 habitantes).

- Dentro de los países que formaron parte de esta base de datos, a nivel de los 5 continentes, España ocupó el 16º puesto tanto en incidencia como en mortalidad de cáncer de labio y cavidad oral (tasa por 100.000 habitantes) (figura 4).



Figuras 5 y 6. Riesgo acumulado y el riesgo estandarizado por edad de cáncer de labio y cavidad oral a nivel mundial.

- Estas serían las gráficas para los riesgos acumulado y estandarizado por edad (figuras 5 y 6). Vemos que España ya no aparece entre los 20 primeros.

- Si analizamos los datos de incidencia y prevalencia de los distintos países del mundo (figura 7), podemos ver que estos datos difieren mucho entre los distintos países, lo que está directamente atribuido a la exposición a factores etiológicos específicos de cada región, que contienen una determinada variedad de carcinógenos (24). La población asiática tiene mayor riesgo de padecer cáncer oral que el resto de poblaciones, lo que se atribuye principalmente a estilos de vida de esta población, fundamentalmente por el consumo de betel por los grupos asiáticos, que contiene nuez de areca y tabaco (25). En el sur y sureste asiáticos, por ejemplo, el cáncer oral representa entre el 40% y el 50% de todos los cánceres (26-32). En el sureste asiático el riesgo ajustado por edad de sufrir un cáncer oral resultó de un 6.7 frente a un 4.3 en Europa y un 4.0 en América (33). En la siguiente gráfica podemos ver los datos de incidencia y mortalidad en las distintas regiones del mundo (21).

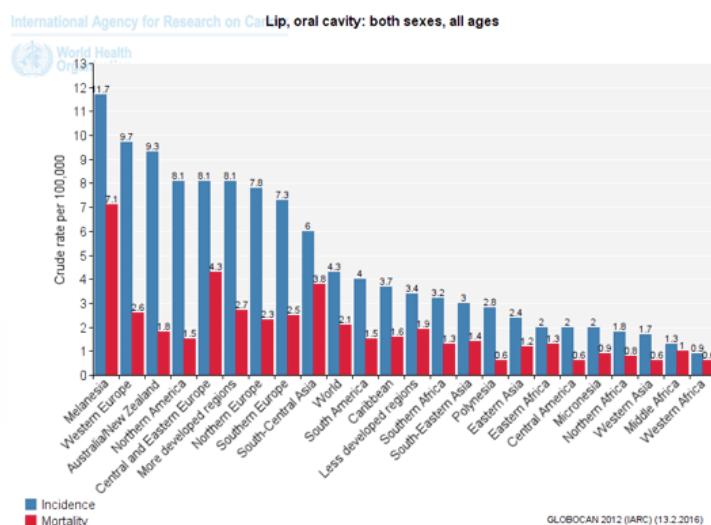
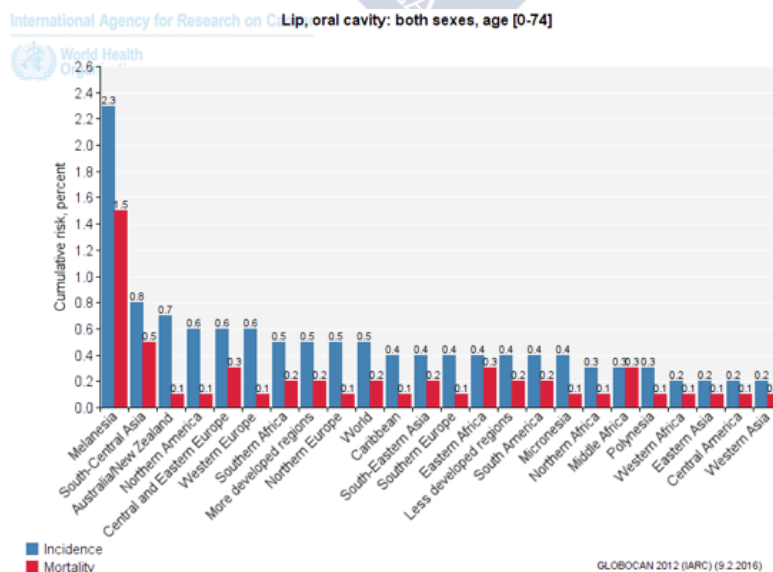
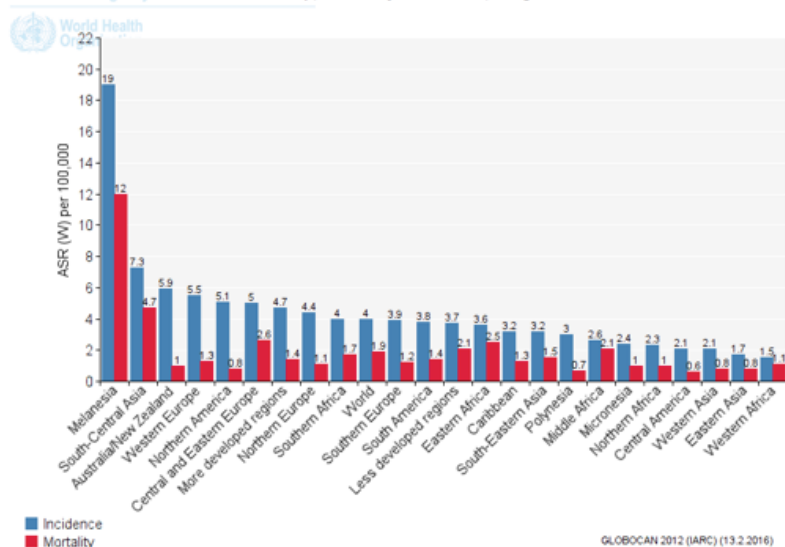


Figura 7. Incidencia y mortalidad de cáncer de labio y cavidad oral en las distintas regiones del mundo (tasa por cada 100.000 habitantes).





Figuras 8 y 9. Riesgo acumulado y el riesgo estandarizado por edad de cáncer de labio y cavidad oral en las distintas regiones del mundo

- En las figuras 8 y 9 podemos ver los datos de riesgo acumulado y riesgo ajustado por edad, para las distintas regiones del mundo.
- Existen áreas de incidencia alta de cáncer oral en el sur y sudeste asiático (Sri Lanka, India, Pakistan, Taiwan...); este (Hungría, Eslovenia, Eslovaquia) y oeste (Francia) de Europa; zonas de Latinoamérica y el Caribe (Brasil, Uruguay, Puerto Rico...); y regiones del Pacífico
- Dentro de Europa, la incidencia es más alta en el este, centro y oeste que en el sur y en el norte. Las tasas de mortalidad más altas son las de Europa del este. En las siguientes tablas (tablas 1 y 2) vemos los datos de incidencia y mortalidad del cáncer de labio y cavidad oral en los distintos países de Europa en el 2012.

Tabla 1. Incidencia del cáncer de labio y cavidad oral en los distintos países de Europa en el 2012

PAÍS	Porcentaje (por 10.000hab)	Riesgo ajustado por edad	Riesgo acumulado
Hungría	15.3	9.7	1.12
Portugal	12.1	6.8	0.75
Alemania	10.6	5.7	0.65
Bélgica	10.2	5.9	0.69
Eslovaquia	9.9	6.5	0.76
Dinamarca	9.6	5.4	0.63
Croacia	9.5	5.2	0.60
Francia (metropolitana)	9.1	5.6	0.62
Suiza	8.9	4.9	0.56
Eslovenia	8.8	5.0	0.58
España	8.8	4.7	0.56
Rumanía	8.6	5.4	0.61
Ucrania	8.6	5.1	0.61
Serbia	8.5	5.3	0.61
Polonia	8.5	5.1	0.61
Países Bajos	8.5	4.7	0.56
República Checa	8.4	4.9	0.56
Finlandia	8.3	4.1	0.47
Bielorrusia	8.1	5.1	0.62
Reino Unido	7.9	4.6	0.54
Noruega	7.8	4.4	0.52
Estonia	7.7	4.3	0.51
Bulgaria	7.7	4.1	0.49
Malta	7.6	3.9	0.43
República Moldavia	7.5	5.0	0.59
Austria	7.5	4.2	0.49
Luxemburgo	7.5	5.2	0.63
Rusia	7.2	4.5	0.55
Lituania	7.2	4.1	0.51
Suecia	7.1	3.5	0.40
Iceland	7.0	4.3	0.53
Montenegro	7.0	4.8	0.51
Italia	6.2	3.1	0.34
Latvia	5.9	3.1	0.38
Islandia	5.4	3.9	0.44
Bosnia Herzegovina	5.3	3.0	0.36
Albania	4.5	3.2	0.34
Macedonia	3.3	2.1	0.23
Grecia	3.3	1.6	0.16
Chipre	2.5	1.7	0.17

Tabla 2. Mortalidad del cáncer de labio y cavidad oral en los distintos países de Europa en el 2012

PAÍS	Porcentaje (por 100.000 hab)	Riesgo ajustado por edad	Riesgo acumulado
Hungría	7.2	4.4	0.50
Eslovaquia	5.0	3.2	0.37
Bielorrusia	4.9	3.2	0.39
Lituania	4.9	3.0	0.35
Estonia	4.9	2.5	0.31
Ucrania	4.8	3.0	0.35
Rumanía	4.7	3.0	0.34
Bulgaria	4.4	2.4	0.28
Croacia	4.0	2.1	0.26
Rusia	4.0	2.4	0.29
Latvia	3.7	2.1	0.25
República Checa	3.7	2.1	0.24
Polonia	3.6	2.1	0.24
República Moldavia	3.6	2.5	0.28
Dinamarca	3.6	1.8	0.20
Portugal	3.5	1.9	0.20
Serbia	3.4	2.0	0.22
Montenegro	3.0	1.8	0.20
Malta	2.9	1.4	0.14
Alemania	2.8	1.3	0.16
Austria	2.8	1.4	0.16
Bélgica	2.6	1.4	0.17
Italia	2.5	1.1	0.12
Francia (metropolitana)	2.5	1.3	0.15
Eslovenia	2.4	1.2	0.15
España	2.4	1.2	0.14
Finlandia	2.2	1.0	0.11
Suiza	2.1	1.1	0.12
Reino Unido	2.1	1.0	0.12
Suecia	2.0	0.9	0.10
Albania	1.9	1.3	0.13
Países Bajos	1.9	0.9	0.11
Macedonia	1.6	1.0	0.11
Grecia	1.6	0.7	0.07
Noruega	1.5	0.8	0.09
Irlanda	1.5	0.9	0.10
Bosnia Herzegovina	1.3	0.7	0.09
Islandia	1.2	0.5	0.06
Chipre	0.7	0.5	0.06
Luxemburgo	0.4	0.2	0.01

La incidencia de cáncer oral aumentó drásticamente durante el siglo XX, tanto en Europa como en EE.UU, especialmente entre individuos de menos de 60 años. El riesgo estandarizado por edad en los países de Europa occidental ha aumentado continuamente durante las dos décadas pasadas. Un ejemplo sería el Reino Unido, donde se produjo un aumento medio del 2.7% anual desde el año 1989, que ha sido puesto en relación con el aumento del consumo de alcohol en el país tras la 2ª Guerra Mundial (34). En EE.UU, hubo un aumento en la incidencia en varones de raza negra desde 1974 hasta 1990; sin embargo, entre 1995 y 2004, se produjo una caída en las tasas de incidencia de cáncer oral y faríngeo de aproximadamente un 1.5% anual en todas las razas. En Francia también se produjo este descenso entre 1980 y 2000. La incidencia en varones pasó de 40.2 por cada 100.000 habitantes a 32.2 en 20 años. En mujeres, en cambio, la incidencia aumentó desde un 3.3 cada 100.000 habitantes en 1980 a un 4.7 en el año 2000. En Japón, el riesgo ajustado por edad se duplicó desde 1975 a 1995, manteniéndose estable hasta el 2001 (35).

A nivel mundial, la incidencia del cáncer de la cavidad oral ha disminuido durante los últimos años, en relación con una disminución del consumo de tabaco (36). Sin embargo, la incidencia del cáncer de orofaringe ha aumentado durante los últimos 20 años, concomitantemente a un aumento en la incidencia de la infección por el virus del papiloma humano (VPH) (37, 38).

2.1.1.1 Edad

El cáncer de la cavidad oral es típicamente una enfermedad de la edad avanzada, probablemente debido a la duración e intensidad de la exposición a carcinógenos (39, 40). El riesgo aumenta con la edad y la mayor parte de los casos se dan en pacientes mayores de 50 años (41). Antiguamente, el porcentaje de cáncer oral en pacientes menores de 40 años no superaba un 5% (42-44). En los años 80, dos centros en Estados Unidos describieron un aumento en el porcentaje de cáncer oral en varones de menos de 40 años (45, 46). También en Europa se confirmó esta tendencia durante los años 80 (47, 48) y actualmente constituye un hallazgo común en muchos países de la UE y en muchas partes de los EE.UU (3, 49). En Escocia, por ejemplo, la tasa de incidencia en varones menores de 45 años se vio doblada entre 1990 y 1999 (de un 0.6 a un 1.3 por cada 100.000 habitantes) (50).

2.1.1.2 Sexo

El cáncer oral es más frecuente en varones que en mujeres (13, 21, 51). Estas diferencias han sido atribuidas fundamentalmente al mayor consumo de alcohol y tabaco y a la mayor exposición solar en trabajadores al aire libre (para el cáncer de labio) entre los varones. La razón entre varones y mujeres varía en las distintas zonas geográficas, grupos étnicos y según el estatus socioeconómico, y ha disminuido en las últimas décadas, probablemente debido al aumento del consumo de alcohol y tabaco entre las mujeres (13, 21, 51). Así, si analizamos los datos del GLOBOCAN 2012 podemos ver que la razón varones-mujeres es de 3.46 en España, 2.27 en la India y 6.94 en Ucrania (21).

2.1.1.3. Estatus socioeconómico

El cáncer oral se encuentra ligado a la privación social y a los estatus socioeconómicos bajos. Las tasas más altas de cáncer oral se dan en los sectores más desfavorecidos de la población (52). Conway publicó un metanálisis en el 2008 que incluía 41 estudios, que demostró una fuerte asociación entre los estatus socioeconómicos bajos y la privación social y un riesgo aumentado de cáncer oral, con una razón de riesgos de 1.85 a favor de los individuos con menor nivel educacional; 1.84 para las clases sociales bajas; y 2.41 para los de los ingresos más bajos, en comparación con aquellos de estatus socioeconómicos altos (53). Esta asociación resultó especialmente fuerte en varones.

2.1.1.4 Localización anatómica

No existe unanimidad a la hora de concretar qué localizaciones concretas se incluyen dentro del epígrafe “cáncer oral”. La Clasificación Internacional de Enfermedades en su décima edición (54) otorga a los tumores malignos del labio y la cavidad oral los códigos C00 a C07 y a los de orofaringe, C10. Dado que en la literatura sobre oncología oral existen multitud de agrupaciones y muy dispares, es necesario establecer criterios objetivos, fundamentados en la patología en estudio y en los parámetros investigados, prestando especial atención a considerar localizaciones con similar estructura histológica y una exposición semejante a factores de riesgo, como son:

- o Tumor maligno de labio: C000 a C009.
- o Tumor maligno de la base de la lengua: C010.
- o Tumor maligno de otras partes de la lengua: C020 a C029.
- o Tumor maligno de la encía: C030 a C039.
- o Tumor maligno del suelo de la boca: C040 a C049.
- o Tumor maligno del paladar: C050 a C059.
- o Tumor maligno de otras partes no especificadas de la boca: C060 a C069.
- o Tumor maligno de la orofaringe: C100 a C109.

En cambio, la American Joint Committee for Cancer Staging describe las siguientes localizaciones anatómicas dentro de la cavidad oral y la orofaringe (figura 10) (55):

- o Lugares anatómicos dentro de la cavidad oral:
 - Labio (superior e inferior).
 - Lengua (dos tercios anteriores).
 - Suelo de la boca.
 - Encía (superior e inferior).
 - Mucosa bucal.
 - Trígono retromolar.
 - Paladar duro.

- o Lugares anatómicos dentro de la orofaringe:
 - Paladar blando.
 - Base de la lengua.
 - Amígdala.
 - Pared faríngea.

Las localizaciones más frecuentes dentro del cáncer de la cavidad oral son la lengua y el suelo de la boca (56, 57). En europeos y estadounidenses, entre el 40% y el 50% de los cánceres orales se localizan en la lengua. En aquellos países en los que son frecuentes los hábitos de mascar tabaco y nuez de betel, los lugares anatómicos más frecuentemente afectados son el triángulo retromolar y la mucosa yugal (56). En Sri Lanka, un 40% de los cánceres de la cavidad oral se localizan en la mucosa yugal (58). Dentro de la lengua, los bordes laterales posteriores y la cara ventral se ven afectados con mayor frecuencia que el resto de localizaciones (59, 60). En un estudio realizado en pacientes tratados por carcinoma epidermoide oral en nuestra población entre el 2008 y el 2013, el 39% de los carcinomas epidermoides (CE) afectaron a la lengua móvil; el 28,8%, al suelo de la boca; el 15,3%, encía; 10,2%, triángulo retromolar; 4,2%, mucosa yugal; y 2,5%, paladar duro (61). En este estudio sólo se incluyeron tumores de la cavidad oral y no de la orofaringe.

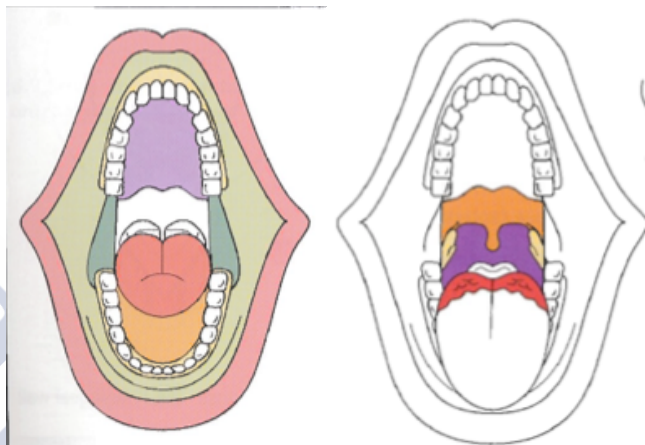


Figura 10. Localizaciones anatómicas dentro de la cavidad oral y la orofaringe.

2.1.2 Etiología

La etiología del cáncer oral es multifactorial, participando factores genéticos, agentes físicos, químicos, virales... Los distintos factores de riesgo se han agrupado de distintas formas. Una de ellas es diferenciando entre intrínsecos y extrínsecos. Otra forma utilizada es dividirlos en establecidos, muy sugestivos, posibles y especulativos. También se han agrupado en modificables (estilos de vida) y no modificables. Los más importantes son el tabaco, el consumo excesivo de alcohol (62) y el uso de betel quid (63); estos factores de riesgo pueden actuar de forma separada o sinérgicamente (64). El riesgo atribuible al alcohol y el tabaco en el cáncer oral se estima que supera el 80%. El riesgo de padecer un cáncer oral en fumadores y bebedores severos es 38 veces más alto que en personas que ni fuman ni beben (64). El consumo de frutas y vegetales se asocia con un menor riesgo de cáncer oral (65). Otros factores, como el VPH, podrían estar implicados (66), sobre todo en los tumores de orofaringe (67). Diversos estudios han encontrado asociaciones significativas entre el cáncer oral y la enfermedad periodontal (68). Otros factores implicados podrían ser una higiene oral deficiente, prótesis mal adaptadas o dientes rotos que provocan roce en la mucosa oral (69), infecciones por herpes simple (70), deficiencias nutricionales, factores inmunológicos (71), la radiación ultravioleta (para el cáncer de labio), las radiaciones ionizantes (72) y otros.

2.1.2.1 Tabaco

No existe ninguna duda en cuanto a la carcinogenicidad del tabaco en cigarrillos (73-75). Sólo el hábito de fumar cigarrillos es responsable de aproximadamente un cuarto de los casos de cáncer oral (76). Se han identificado más de 60 carcinógenos en el tabaco en forma de cigarrillos y al menos 16 en el tabaco sin combustión. Los más importantes son las nitrosaminas, los hidrocarburos aromáticos policíclicos y las aminas aromáticas. El riesgo entre exfumadores es más bajo que en fumadores. El riesgo disminuye cuantos más años hayan pasado desde el cese del hábito (77), aunque deberían pasar hasta diez años para que el riesgo se iguale a los no fumadores. Existe una relación directa entre el cáncer oral y la cantidad de cigarrillos fumados y la duración del hábito tabáquico. También existe evidencia en cuanto a la carcinogenicidad del tabaco de mascar; sin embargo, no existe tanta evidencia en relación con el rapé (78, 79). Los preparados de betel, con y sin tabaco añadido, también son carcinogénicos en humanos, y constituyen un importante factor de riesgo entre individuos con este hábito en países asiáticos y minorías étnicas en otros países (63, 80). A pesar de que la relación entre el hábito de fumar y el cáncer oral es dosis-dependiente, no parece existir un mayor riesgo de cáncer oral en fumadores leves en comparación con no fumadores, en ausencia de otros factores de riesgo. Sin embargo, los fumadores importantes sí tienen un riesgo mayor muy claro. De hecho, el riesgo de cáncer oral aumenta de forma significativa cuando la duración del hábito tabáquico supera los 20 años y la cantidad diaria supera los 20 cigarrillos (76).

2.1.2.2 Betel quid.

Es una práctica muy antigua, llevada a cabo en la actualidad aproximadamente por 600 millones de personas en el Sudeste Asiático e islas del Pacífico. Los componentes más frecuentes del betel quid son las hojas de betel, que envuelven al resto de componentes; la nuez de areca; lima, cal o catechu (extracto de acacia con taninos y catecolaminas); también se le pueden sumar otros productos para dar sabor, como especias; y también se le puede añadir o no tabaco. Esta mezcla posee una acción estimulante que aumenta la capacidad de trabajo y de alerta, con efectos eufóricos. Forma parte de la tradición y cultura en estos países, con un papel fundamental en las relaciones sociales y ceremonias públicas y privadas. Su uso es frecuente en países como Pakistán, Bangladesh, India, Sri Lanka, Tailandia, Papúa Nueva Guinea... En los países del Sudeste Asiático la frecuencia de consumo se encuentra entre un 25 y un 50%, similar entre hombres y mujeres, con picos de entre el 80 y el 90 % en algunos grupos étnicos rurales (81). También se encuentran frecuencias de consumo elevadas en comunidades de inmigrantes del sur de Asia que viven en países de Europa Occidental (82). El uso de betel quid es similar entre hombres y mujeres. El betel quid ha sido clasificado por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer como un carcinógeno oral en humanos, con una relación dosis-respuesta (63). El riesgo de cáncer oral aumenta en los casos de un consumo frecuente y de larga duración; para consumos bajos y moderados estudios recientes no corroboran esto, en ausencia de otros hábitos tóxicos. En áreas donde existe un alto consumo de betel quid sin tabaco, la mitad de los casos de cáncer oral entre los varones y casi el 90% entre las mujeres pueden atribuirse a este hábito (83).

La asociación del hábito tabáquico con el consumo de alcohol tiene un efecto sinérgico, multiplicando el riesgo de cáncer oral sobre el esperado para cada uno de los dos factores de riesgo aisladamente (84). En un estudio con población española, por ejemplo, el riesgo de cáncer oral con la asociación de consumo importante de alcohol (más de 5 bebidas al día) y fumador importante (más de 20 cigarrillos al día), fue 13 veces mayor que el riesgo esperado para cada uno de los dos hábitos por separado. En este mismo estudio, los fumadores y bebedores severos alcanzaron un riesgo 50 veces mayor de cáncer oral que los individuos que nunca habían fumado ni bebido (85).

2.1.2.3 Alcohol

Existen datos convincentes que avalan el rol del alcohol en la etiología del cáncer oral, con una proporción sustancial de muertes en el mismo atribuidas al alcohol (86). Entre un 7% y un 19% de todos los casos de cáncer oral son atribuibles a un consumo de alcohol severo (76, 87). La asociación entre cáncer oral y alcohol es además dosis-dependiente. De hecho, el riesgo de cáncer oral en consumidores de 4-5 bebidas alcohólicas al día es entre 2 y 3 veces más alto que entre no bebedores (88, 89). Sin embargo, el papel exacto del alcohol en la patogénesis no ha sido completamente dilucidado. El consumo de alcohol aumenta el riesgo de cáncer oral entre los individuos fumadores, exfumadores, alguna vez fumadores y no fumadores (36, 74, 85). El alcohol en sí no es un carcinógeno directo, pero podría actuar como solvente para facilitar la exposición de la mucosa oral a los carcinógenos. Sin embargo el acetaldehído, un metabolito del alcohol originado de la acción de la aldehído deshidrogenasa sobre el etanol, tiene múltiples efectos mutagénicos sobre el ADN, interfiriendo en la síntesis y reparación del mismo y siendo por tanto el responsable del efecto carcinogénico del alcohol (90). Además del etanol, otros componentes de las bebidas alcohólicas, como las nitrosaminas, acrilamida, polifenoles oxidados, etc, son considerados posibles carcinógenos en humanos; estudios experimentales en animales muestran actividad mutagénica en células del epitelio oral (91).

El riesgo de cáncer oral en bebedores aumenta todavía más para fumadores o mascadores de tabaco y/o mascadores de betel quid (92). El consumo de tabaco y alcohol considerados conjuntamente, es responsable de aproximadamente del 75% de todos los carcinomas epidermoides de cabeza y cuello (CECC) (40, 64).

2.1.2.4 Marihuana

La marihuana es la droga ilegal consumida más frecuentemente en la mayoría de los países. Aunque Zhang encontró un aumento del riesgo de CECC en EE.UU. con el consumo de marihuana, no existe suficiente evidencia científica para considerarla como un agente causal del cáncer oral (93). Distintos estudios corroboran la ausencia de esta asociación entre consumo de marihuana y cáncer oral (94-96).

2.1.2.5 Infección por el virus del papiloma humano

El VPH constituye un factor de riesgo emergente en el CECC, fundamentalmente en los tumores localizados en la orofaringe (97). También recientemente la infección oral por el VPH ha sido asociada con las prácticas sexuales, en particular con el número de compañeros de sexo oral (98). La seropositividad para el VPH 16 confiere entre el doble y el triple de riesgo de padecer cáncer oral (66, 99), aunque no todos los estudios están de acuerdo con esto (99); la infección oral por los VPH oncogénicos multiplican este riesgo por seis (100, 101). Estas asociaciones se hacen todavía más fuertes si restringimos los datos a los cánceres de orofaringe. Algunos estudios sugieren un efecto sinérgico del VPH con el tabaco (99) o el alcohol (102), que no encuentran otros (66). Aunque un meta-análisis reciente publicó una prevalencia de VPH del 23.5% en los carcinomas de cavidad oral, la IARC en un estudio multicéntrico ha encontrado una prevalencia del 3.9% (66).

A pesar de la clara evidencia de la relación causal entre el VPH y el cáncer de orofaringe, el papel del VPH en el cáncer de la cavidad oral no se ha aclarado todavía (103).

Los tumores VPH positivos tienen factores de riesgo relacionados con las prácticas sexuales, mientras que los tumores VPH negativos se asocian con el alcohol y el tabaco (104). Un estudio retrospectivo reciente concluye que los cánceres orofaríngeos VPH positivos tienen una supervivencia mayor a los 3 años que los VPH negativos (105). Los cánceres VPH positivos en cavidad oral son mucho menos frecuentes, aunque estudios recientes sugieren mejores resultados en cánceres VPH positivos fuera de la orofaringe que en los que son VPH negativos (106).

2.1.2.6 Dieta

La relación entre dieta y riesgo de cáncer oral está entre las más fuertes de todos los tipos de cáncer. Existe suficiente evidencia para relacionar un bajo consumo de vegetales frescos y frutas con un riesgo aumentado de cáncer oral (94, 107). En la mayor parte de los estudios se encuentra una disminución estadísticamente significativa de la incidencia de cáncer oral con un consumo adecuado de fruta y vegetales frescos (108-111). Este efecto protector de vegetales y frutas estaría relacionado con determinados micronutrientes que contienen estos alimentos, como vitaminas E y C, que poseen efecto antioxidante: flavonoides, folatos, fibras, fitoesteroles y beta-carotenos (111, 112). Estas sustancias podrían jugar un papel esencial al contrarrestar los efectos deletéreos de distintos hábitos carcinogénicos, como el hábito tabáquico, el consumo de alcohol o el de betel quid (113-115). Zheng encontró un aumento del cáncer oral con el descenso de los niveles séricos de carotenoides (116). Se estima que el riesgo de cáncer oral se reduce aproximadamente a la mitad en las personas que consumen una adecuada cantidad diaria de vegetales frescos y fruta (65). Aunque inicialmente había controversia en cuanto al efecto protector de frutas y vegetales frente al cáncer oral en individuos no fumadores ni bebedores, existen estudios que confirman este efecto protector independientemente del consumo de alcohol y tabaco (117). A pesar de la evidencia encontrada en distintos estudios, convendría tener en cuenta que este efecto de fruta y vegetales podría estar sobrevalorado, dado que los fumadores y bebedores severos, que tienen un riesgo alto de cáncer oral, generalmente tienden a consumir niveles bajos de frutas y verduras, por lo que la asociación entre niveles bajos de consumo de verduras y frutas y el aumento de cáncer oral podría deberse en mayor o menor parte a la

exposición simultánea a carcinógenos importantes (118, 119). Sánchez, en su estudio con una población española, encontró una relación inversa estadísticamente significativa entre el cáncer oral y orofaríngeo y el consumo de vegetales y frutas. Además, encontró que el efecto protector de cada pieza de este tipo de alimentos era mayor en fumadores y grandes bebedores (120).

Se han encontrado riesgos más altos de padecer cáncer oral en personas con un alto consumo de carne y productos cárnicos procesados (110). De Stefani encontró que una dieta rica en carne y lácteos y pobre en vegetales y fruta aumentaba el riesgo de cáncer oral independientemente del consumo de alcohol y tabaco (121).

La dieta mediterránea ha sido asociada con una reducción del riesgo de cáncer oral y de orofaringe (113, 122).

También se ha asociado inversamente el consumo de café con el cáncer oral y de orofaringe. Las personas que beben una taza al día tienen un riesgo un 4% más bajo; las personas que beben más de 4 tazas al día tienen un 39% menos de riesgo. El té y el café descafeinados parecen no asociarse con el cáncer oral (122).

Ha sido publicado que la gente que ha tomado suplementos de vitamina C sufre una reducción del 24% del riesgo de padecer cáncer de cabeza y cuello, y que los que han tomado alguna vez suplementos de calcio, experimentan reducción del 36%. Sin embargo, una revisión de la Cochrane concluyó que esta evidencia resultaba conflictiva e insuficiente (122).

2.1.2.7 Estatus socioeconómico

El cáncer oral se da más frecuentemente en individuos pertenecientes a grupos socioeconómicos bajos y personas que viven en áreas de pobreza. Se ha atribuido esto al alto consumo de tabaco y alcohol y a la pobreza de la dieta en estos grupos. Sin embargo, ya hay estudios que sugieren que el estatus socioeconómico bajo, entendido de distintas maneras (ingresos, ocupación o nivel educacional) representa un factor de riesgo significativo para el cáncer oral independiente de los hábitos de vida (53). Un estudio con población europea mostró una incidencia el 130% más alta de cáncer de cabeza y cuello en hombres y 74% en mujeres en individuos pertenecientes a zonas pobres. Resultados similares se encontraron en otros estudios en Irlanda del Norte, Gales y Escocia (122).

2.1.2.8 Inmunosupresión

Un estudio encontró que el riesgo de cáncer oral aumentaba en pacientes con trasplante de pulmón (123) y que este aumento estaba asociado significativamente con el uso de inmunosupresores como la azatioprina y la ciclosporina (124). El uso de inmunosupresores en el tratamiento de la enfermedad de Crohn podría aumentar el riesgo de cáncer de lengua (125).

2.1.2.9 Mate

El mate es una infusión de la hierba *Ilex paraguariensis*, cultivada fundamentalmente en Sudamérica. Es muy consumida en Argentina, Uruguay, Paraguay y el sur de Brasil y suele tomarse muy caliente. Diversos estudios refieren que el hábito de beber mate aumenta el riesgo de padecer cáncer oral. Un meta-análisis reciente confirma esta asociación (126). La alta temperatura a la que se bebe el mate podría actuar como un cofactor que provocaría irritación crónica de la mucosa oral.

2.1.2.10 Higiene oral

Muchos de los pacientes con cáncer oral tienen una pobre salud dental, con caries y periodontitis. Aunque el hábito tabáquico y alcohólico y el consumo de betel pueden ser factores confusores difíciles de controlar en los estudios epidemiológicos, existe suficiente evidencia hoy en día para concluir que una pobre salud dental se asocia con el riesgo de cáncer oral. Este riesgo se asocia inversamente con distintos medidores de la higiene oral, como la frecuencia de cepillado y el número de visitas al odontólogo (108, 109, 127, 128). Graham y Marshall encontraron un aumento significativo del riesgo de cáncer oral entre no fumadores ni bebedores con mala higiene oral (129, 130). Una mala higiene oral detectada mediante la exploración física intraoral aumenta entre 2 y 4 veces el riesgo de cáncer oral, independientemente del sexo, edad, dieta y hábitos tabáquico y alcohólico (83, 131). El indicador más potente y más consistente de una salud oral pobre crónica es la pérdida de piezas dentales. Distintos estudios han encontrado una fuerte asociación entre la ausencia de piezas dentales y un riesgo elevado de cáncer oral (130-132); este riesgo aumenta con el aumento en el número de piezas ausentes (109, 129). Los estados de infección e inflamación crónicas son factores cada vez más reconocidos que contribuyen en la patogénesis de diversos cánceres (133, 134). Esto nos sugiere por lo que acabamos de decir que una higiene oral pobre es un factor de riesgo independiente para el cáncer oral, probablemente debido a un estado de inflamación crónica para el que la pérdida de piezas dentales sería un buen marcador.

2.1.2.11 Predisposición genética

Se conocen pocos casos de trastornos hereditarios que se asocian con un mayor riesgo de cáncer oral. La anemia de Fanconi (AF) es uno de ellos. En estos pacientes el riesgo de padecer un CECC se multiplica entre 500 y 700 veces (135, 136). Aproximadamente un 14% de los individuos con Anemia de Fanconi desarrollan un CECC antes de los 40 años, y la mayoría ocurren en pacientes no fumadores y no bebedores (135). En el 84% de los cánceres orales en pacientes con AF se ha detectado VPH de alto riesgo, lo que sugiere que la AF podría aumentar la sensibilidad a la tumorigénesis mediada por este virus (137). Aunque se han detectado también cánceres orales en otros síndromes hereditarios como el xeroderma pigmentoso y la disqueratosis congénita, estas asociaciones están menos estudiadas que en el caso de la anemia de Fanconi (138, 139). El cáncer oral en pacientes jóvenes también ha sido descrito en familias con mutaciones germinales de p16 que provocan su inactivación funcional (140, 141). Las mutaciones somáticas de p16 también constituyen un evento frecuente en la progresión de los cánceres orales esporádicos (142).

Por otra parte, distintos trabajos han estudiado el impacto de la historia familiar en el riesgo de cáncer oral, encontrando un componente genético también en los cánceres esporádicos. En la mayoría de los estudios, el riesgo aumenta entre 2 y 4 veces en individuos con historia familiar de cáncer oral, tras ajustar edad, sexo y consumo de alcohol y tabaco. Normalmente se define como historia familiar de cáncer oral aquellos que tienen uno o más familiares de primer grado con CECC (143-145). El riesgo aumenta entre 8 y 14 veces si el familiar afecto es un hermano (143, 144). También se ha asociado la historia familiar con un aumento entre 4 y 8 veces del riesgo de padecer un segundo tumor primario entre aquellos individuos con un CECC (146, 147). Algunos hallazgos de estos estudios sugieren que la influencia de la historia familiar en el riesgo de cáncer oral se debe a una sensibilidad aumentada a los carcinógenos presentes en el alcohol y el tabaco, dado que las asociaciones estadísticamente significativas se limitaron a individuos con historia familiar de cánceres relacionados con el tabaco.

Aparte de lo referente a la herencia, las células cancerígenas en el cáncer oral y de orofaringe presentan daños en su ADN debidos a la exposición ambiental a distintos agentes carcinogénicos, por lo que deberíamos considerarla una enfermedad genética (148).

2.1.2.12 Radiación ultravioleta

Representa un factor de riesgo en el cáncer de labio (149, 150), fundamentalmente en aquellas personas que han estado expuestas al sol durante largos períodos de tiempo, generalmente por su ocupación (marineros, agricultores...). Más de un tercio de los cánceres de labio se producen en personas que han trabajado al aire libre y por lo tanto han estado expuestos a la radiación solar durante largos periodos de tiempo.

2.1.2.13 Radiación ionizante

Las radiaciones ionizantes podrían tener un papel etiológico en el cáncer de cabeza y cuello. Se ha descrito el desarrollo de carcinomas en pacientes sometidos a irradiación previa en esa zona, sin que parezca existir una relación con la dosis de la radiación (151). Se relacionó la radiación previa con tumores de glándulas salivares, carcinomas de células escamosas y sarcomas (152).

2.1.3 Clínica

2.1.3.1 Lesiones precancerosas y condiciones precancerosas

- Lesión precancerosa: la OMS define lesión precancerosa como un tejido morfológicamente alterado en el que la aparición de cáncer es más probable que en el tejido equivalente de apariencia normal. Implica reversibilidad y no implica el desarrollo definitivo de neoplasia.

- o Siguiendo una clasificación clínica distinguiríamos las siguientes (153):
 - Leucoplasia.
 - Eritroplasia.
 - Queilitis actínica del labio.
 - Queratosis del paladar asociada a fumar invertido.
 - o Siguiendo una clasificación histopatológica distinguiríamos:
 - Displasia epitelial.
 - Carcinoma in situ.
- Condición precancerosa: estado generalizado del organismo asociado con un incremento significativo del riesgo de desarrollo de cáncer. No implica la existencia de una alteración clínica perceptible. Distinguiríamos los siguientes:
- o Lique plano oral.
 - o Fibrosis oral submucosa.
 - o Sífilis.
 - o Lupus eritematoso discoide.
 - o Xeroderma pigmentosum.
 - o Epidermolisis ampollosa.
 - o Inmunodeficiencia.
 - o Disqueratosis congénita.
 - o Enfermedad de Plummer-Vinson.

La frecuencia de transformación maligna de estas lesiones y estados precancerosos varía y no hay una cifra precisa. Bouquet (154) ha publicado una clasificación aproximada, ordenándolas por orden de mayor a menor probabilidad de transformación maligna (figura 11):

Figura 11. Probabilidad de transformación maligna de las distintas condiciones y lesiones precancerosas.

Lesión o condición	Potencial de malignización aproximado
Leucoplasia verrucosa proliferativa (LPV)	+++++
Palatitis crónica de los fumadores	+++++
Eritroplasia	++++
Fibrosis oral submucosa	++++
Eritroleucoplasia y leucoplasia nodular	++++
Queilitis actínica	+++
Leucoplasia gruesa homogénea	++
Lique plano (formas no reticulares)	++

La **leucoplasia** (figura 12) es la lesión precancerosa más frecuente de la mucosa oral. La OMS la definió en el 1978 como una mancha blanca que no puede catalogarse como otra entidad clínica ni patológica (155). En el 1994, en Uppsala, un grupo de expertos en patología oral la define como una lesión predominantemente blanca de la mucosa oral que no puede ser categorizada como ninguna otra lesión, ni clínica ni histológicamente, y que tiene tendencia a la transformación maligna (156). No puede desprenderse generalmente con el raspado. Actualmente el riesgo de desarrollar cáncer se sitúa alrededor del 0,4% (157). Este riesgo va a estar condicionado por una serie de factores; así, la localización en suelo de la boca y la cara ventral de la lengua, la no homogeneidad y la presencia de displasia condicionan un mayor riesgo de malignización (158, 159).



Figura 12. Lesiones precancerosas: leucoplasia

La **eritroplasia** (figura 13) es definida por la OMS como una lesión de la mucosa oral que aparece en forma de placas rojas, aterciopeladas, de bordes irregulares aunque bien definidos, que no pueden ser caracterizadas ni clínica ni histológicamente como ninguna otra enfermedad. Es menos frecuente que la leucoplasia, pero el riesgo de malignización es mucho mayor que en aquella, con gran tendencia a desarrollar carcinomas in situ (158).



Figura 13. Lesiones precancerosas: eritroplasia

La **leucoplasia verrucosa proliferativa** (LVP) (figura 14) fue descrita en 1985 por Hansen como una enfermedad de origen desconocido, con gran tendencia a malignizar (160). Consiste en una placa blanca, verrucosa, exofítica, de crecimiento lento, que no se desprende al raspado y resistente a los tratamientos. Representa una forma especialmente agresiva de leucoplasia oral con tendencia a la extensión y a la multifocalidad. La localización inicial más frecuente es la mucosa yugal. Es la lesión precancerosa con mayor riesgo de malignización (154).



Figura 14. Lesiones precancerosas: LVP

El **liquen plano** (figura 15) es una enfermedad inflamatoria poco frecuente que afecta a la piel y a la mucosa oral. Su causa es desconocida. Se presenta de distintas formas: la forma reticular es la presentación más común y consiste en lesiones como pinceladas, blanquecinas, en la mucosa oral; o bien como pápulas pequeñas (154). Generalmente son asintomáticas y bilaterales y la localización más frecuente es en los bordes laterales de la lengua y en las mucosas yugales. Existen estudios que asocian el liquen plano oral, fundamentalmente su forma erosiva, con un aumento del riesgo de cáncer oral; otros trabajos ponen en duda esta asociación (161, 162).



Figura 15. Lesiones precancerosas: liquen plano

La **fibrosis oral submucosa** se caracteriza por la destrucción del tejido conjuntivo, lo que va seguido de una resolución cicatricial en la que se depositan densas bandas de colágeno, lo que conlleva la desaparición de la elasticidad normal de la mucosa oral; ésta se vuelve rígida, lo que provoca una limitación funcional. Debido a la disminución de la vascularización el epitelio oral se atrofia y se hace por tanto más sensible a la acción de los carcinógenos externos. Es frecuente encontrar displasia en el estudio inmunológico, lo que apoya el carácter precanceroso de esta lesión (154, 163, 164)

La **queilitis actínica** (figura 16) es un tipo de queratosis actínica que afecta fundamentalmente al labio inferior. Está causada por la exposición crónica a la luz solar. El porcentaje de malignización alcanza en algún estudio el 16.9% (165).



Figura 16. Lesiones precancerosas: queilitis actínica

2.1.3.2 Formas de presentación clínica

El carcinoma epidermoide oral (CEO) suele presentarse como una tumoración indurada o como una úlcera (166), dolorosa o no, acompañada a menudo de adenopatías cervicales. El tamaño de las lesiones puede variar desde milímetros hasta varios centímetros (167).

Las lesiones iniciales pueden pasar desapercibidas, ya que muchas son asintomáticas. Normalmente los pacientes no tienen síntomas hasta que la lesión primaria alcanza un tamaño considerable, lo que lleva a un diagnóstico tardío. Se ha observado que el 69% de las lesiones asintomáticas tienen un tamaño de 2 cm o menos y el 23% de 1 cm o menos. Suelen tener un aspecto característico: placa de color rojo (eritroplasia), acompañada o no de lesiones blancas (eritroleucoplasia). En algunos casos pueden tener el aspecto de una leucoplasia. Cambios en la textura o en la palpación nos hacen sospechar que la lesión sea maligna (167).

Las lesiones más avanzadas pueden presentarse bajo tres formas clínicas (167):

- o Exofítica (figura 17): crecimiento hacia afuera. Se presenta como una masa sobreelevada de amplia base y superficie nodular. A la palpación se percibe la infiltración en los bordes y en la base (56). Normalmente presenta una superficie irregular o papilar con un color que varía de rojo a rosado-blanco, dependiendo de la cantidad de queratina producida.



Figura 17. Formas clínicas: exofítica

- o Endofítica (figura 18): forma más frecuente. Úlcera de forma irregular, profunda, de bordes evertidos, fondo sucio, consistencia dura e infiltración en profundidad. Estas lesiones tienen un componente superficial muy pequeño, pero con una afectación considerable de los tejidos subyacentes más profundos (56).



Figura 18. Formas clínicas: endofítica

- o Mixta: aparecen asociadas las dos anteriores.

También se pueden considerar como forma clínicas las siguientes.

- o Leucoplásica.
- o Eritroplásica.
- o Eritroleucoplásica.

Las tres últimas formas clínicas corresponderían probablemente a casos que todavía no han llegado a producir una ulceración o masa, siendo su apariencia clínicamente igual a una leucoplasia/eritroplasia.

En general, las características clínicas de la lesión son suficientes para establecer la sospecha diagnóstica e indicar la necesidad de realizar una biopsia con el fin de confirmar el diagnóstico.

El síntoma más frecuente en el CEO es el dolor, representando el 30-40% de las quejas de los pacientes (158). Otros síntomas comunes son otalgia, sangrado, disfagia, disartria, trismus, parestesias, pérdida de piezas dentales y pérdida de peso. El sangrado de la lesión es una característica de malignidad y debe plantear inmediatamente la sospecha de un proceso maligno. Los pacientes con tumores avanzados pueden presentar además adenopatías cervicales, fistulas cutáneas, anemia severa, caquexia u otras. También, cuando el tumor afecta a estructuras adyacentes como músculos, nervios o huesos, puede dar sintomatología específica. Un ejemplo es el signo de Vicent d'Alger, que consiste en parestesias en la región labiomental por infiltración

del nervio alveolar inferior. Puede verse afectado el seno maxilar, la fosa nasal... o aparecer sintomatología dental o periodontal (movilidad, odontalgia, retraso en la cicatrización tras una exodoncia que esconde afectación del alveolo subyacente...).

Mashberg encontró en su estudio con 102 CEO que los síntomas más frecuentemente referidos por los pacientes eran el ardor de boca y el dolor (168). Cuffari estudió 1440 CEO; en el 19,2% de los pacientes el dolor fue el primer síntoma; el 88,1% de los casos diagnosticados en estadios avanzados (II y III) presentaban dolor (169). Jainkittivong encontró que la tumefacción y/o el dolor fueron los primeros signos/síntomas referidos por el paciente en el 52.6% de los casos (170). Al-Rawi, en su estudio de 1425 CEO, encontró que las principales quejas de los pacientes eran la ulceración y la tumefacción (171).

En el 4% aproximadamente de todos los CEO existen tumores primarios múltiples, por lo que es imprescindible examinar cuidadosamente toda la cavidad oral en el momento del diagnóstico.

2.1.3.3 Evolución clínica

El tumor primario puede crecer con una mayor o menor rapidez, pudiendo invadir estructuras vecinas como el hueso maxilar o mandibular, la piel de la cara, el seno maxilar, vasos y nervios...

Durante el curso clínico de un CEO la afectación de los ganglios linfáticos regionales se produce de forma temprana. En el momento del diagnóstico, un 55% de los tumores de la orofaringe y un 20% de los de la cavidad oral presentan metástasis linfáticas (172). La afectación de los ganglios cervicales en el CEO reduce la supervivencia a los 5 años aproximadamente a la mitad y constituye el factor pronóstico individual más importante en los pacientes con CECC (56). La existencia de extensión extracapsular dentro del ganglio disminuye otro 50% la supervivencia (158).

La afectación de los ganglios linfáticos regionales va a depender de distintos factores en relación con el tumor primario:

- Tamaño tumoral.
- Localización (cuanto más anterior dentro de la cavidad oral el tumor, menor probabilidad de metástasis linfáticas).
- Estadíaje T.
- Características macroscópicas del tumor.
- Grosor tumoral.
- Grado de diferenciación.

En el caso de los carcinomas epidermoides (CE) de la cavidad oral, los ganglios linfáticos a los que más frecuentemente drenan estos tumores serían los de los niveles I, II y III. Son muy raras las metástasis en niveles IV o V sin haber afectación de los niveles I, II y III. Una excepción serían los tumores localizados en el tercio medio del borde lateral lingual; se han descrito "skip metástasis" en niveles IV y V sin afectación de los niveles supraomohioideos.

En el caso de los CE de la orofaringe, los niveles linfáticos en riesgo suelen ser el II, III y IV.

La afectación ganglionar contralateral o bilateral es más frecuente en tumores linguales o del paladar blando.

Normalmente, los ganglios metastatizados por un CEO suelen ser redondos y duros a la palpación, móviles al principio; cuando se produce afectación extracapsular se fijan a los tejidos circundantes, como músculos, vasos o piel (pudiendo provocar fístulas cutáneas), por lo que dejan de ser móvil.

Si nos fijamos en algunos trabajos, podemos ver que Brandizzi, por ejemplo, encontró un 39% de pacientes con CEO con adenopatías palpables móviles y un 10% con adenopatías palpables adheridas a planos profundos (173). Ghoshal encontró un 62% de afectación ganglionar, en su serie de CE de mucosa yugal (174). Mallet encontró un 24% (en menores de 35 años) y Oliver un 20%. En el trabajo de Sasaki, el 14,3% de los pacientes menores de 40 años presentaban adenopatías, frente a un 22,7% en mayores de 40 años (175). Mashberg encontró afectación ganglionar en el 45% de los pacientes (168).

En el CEO la diseminación hematogena no es tan frecuente como la linfática. El órgano donde se producen más metástasis a distancia en el CEO es el pulmón.

Los datos de supervivencia para el cáncer de cavidad oral y orofaringe en la mayor parte de los países rondan el 50% a los 5 años. La localización con mayor supervivencia es el cáncer de labio, que se aproxima al 90% (176). En general, el pronóstico empeora con el avance de la enfermedad y con la inaccesibilidad del tumor. El TNM al diagnóstico influye en la supervivencia. Seoane encontró relación entre el estadiaje tumoral (I y II frente a III y IV) y la supervivencia en su serie de 63 carcinomas epidermoides orales en población gallega (177). En un estudio realizado en nuestra población, por ejemplo, se encontraron diferencias altamente significativas entre los estadios I y III, I y IV, y II y IV (61).

El éxito en el tratamiento inicial en los cánceres de cavidad oral y orofaringe ha llevado a la emergencia de segundos tumores primarios (STP). El riesgo relativo para padecer tumores primarios múltiples es más alto en pacientes jóvenes, aquellos que continúan fumando y bebiendo alcohol tras el tratamiento del tumor primario, aquellos tratados sólo con radioterapia y aquellos tratados después del 1990 (176). En un estudio con población del sur de Inglaterra encontraron que tras 20 años del tratamiento del tumor primario un 30% de los varones y un 20% de las mujeres desarrollarían un STP (178).

A pesar de un tratamiento exitoso, muchos pacientes curados de su cáncer oral tienen que lidiar con las consecuencias de su tratamiento, que afectan al aspecto físico y a las funciones de alimentación y habla. Esto puede derivar en deficiencias nutricionales, depresión y otros problemas. Por tanto, hay que tener muy en cuenta la calidad de vida en estos pacientes.

2.1.4. Diagnóstico

La ventaja de los tumores de la cavidad oral y la orofaringe es su accesibilidad a la inspección directa. Esto permite una fácil visualización, palpación y toma de biopsia bajo anestesia local y de forma ambulatoria. La visualización se hace utilizando una iluminación mediante una luz blanca normal.

Existen una serie de signos y síntomas que deberían siempre establecer la sospecha de un CEO:

- Eritroplasias, leucoeritroplasias o úlceras en la mucosa que persistan más de 2 semanas a pesar de la eliminación del factor causal.
- Movilidad de piezas dentarias sin estar esto asociada a enfermedad periodontal.
- Sensación de cuerpo extraño faríngeo que persiste más de dos semanas, sobre todo si es unilateral.
- Parestesias.
- Disfagia u odinofagia de más de dos semanas de evolución.

Ante la presencia de cualquiera de estos síntomas, el profesional de la salud debería sospechar un carcinoma epidermoide y remitir al paciente al especialista correspondiente.

A pesar de que el CEO es fácilmente diagnosticable por su accesibilidad mediante la inspección intraoral, la mayor parte se diagnostican en estadios avanzados, y esto es algo que no ha cambiado durante muchos años.

Ante la sospecha de un CEO, el especialista deberá obtener una historia clínica dirigida, recogiendo los síntomas de debut, su cronología y evolución, además de antecedentes médicos relevantes, medicación y hábitos tóxicos, fundamentalmente tabaco y alcohol.

El diagnóstico inicial del CEO es fundamentalmente clínico, mediante inspección y palpación de la lesión. Es importante explorar toda la superficie mucosa, dada la relativa frecuencia de tumores sincrónicos en los CECC. Lo ideal es una exploración intraoral con un fotóforo de luz frontal, que permite utilizar ambas manos para manipular los tejidos y exponer las zonas de más difícil acceso, como la parte posterior de la lengua, el pliegue glosoamigdalino y la celda amigdalina. En algunos casos será necesaria la realización de una fibroscopia.

Tras el examen de la cavidad oral se debe realizar una exploración de las regiones laterocervicales, mediante una palpación bimanual. Esta exploración debe ser sistemática y recogerá la existencia o no de nódulos cervicales y, de existir, hay que detallar la localización de los mismos, su consistencia, fijación a piel o planos profundos...

La sospecha diagnóstica se confirma mediante toma de biopsia y estudio histológico. Puede hacerse tomando una cuña del tejido, generalmente bajo anestesia local, o con un sacabocados. Debe tener un tamaño adecuado para que contenga suficiente tejido para el diagnóstico. Generalmente puede hacerse con anestesia local, de forma ambulatoria y mediante abordaje intraoral. En algunas localizaciones, como la base de la lengua, tenemos que recurrir a una laringoscopia indirecta, fibroendoscopio con canal de trabajo o incluso puede llegar a ser necesaria la toma de la muestra bajo anestesia general en quirófano. Normalmente se toma la muestra de la periferia

de la lesión. En caso de lesiones exofíticas con depósito de queratina excesivo en su superficie, debe tomarse la muestra de la zona invasiva adyacente o de la profundidad de la lesión. Toda lesión sospechosa de CEO debe biopsiarse lo antes posible y, en caso de ser negativa y persistir la sospecha clínica, debe repetirse la biopsia hasta que se confirme el diagnóstico histológico.

- **HISTOLOGÍA:** el carcinoma epidermoide, al corte, suele presentar un aspecto carnososo o necrótico y mostrar un frente penetrante. Histológicamente se caracteriza por la diferenciación escamosa más o menos evidente en grupos de células atípicas (nidos, cordones o islotes) y/o con células aisladas que invaden desde el epitelio de la mucosa hacia planos profundos, alcanzando con frecuencia cartílago o hueso y con posible permeación vascular venosa y/o linfática e invasión perineural. El frente de invasión puede ser infiltrante o expansivo, comportando el primero mayor agresividad (179, 180). Se han propuesto diversas clasificaciones desde el punto de vista patológico, siendo la más aceptada la clasificación de la OMS, que los divide según el grado de queratinización, el pleomorfismo celular y nuclear y la actividad mitótica; cuanto mayor sea el nivel de queratinización y menor la atipia y el índice mitótico, más bien diferenciado (y por tanto de bajo grado) se considera el tumor, y viceversa, los tumores que muestran muchas atipias y mitosis y poca queratina se consideran poco diferenciados (y por tanto de más alto grado); en los tumores mejor diferenciados suele haber más desmoplasia estromal, que consiste en la proliferación de miofibroblastos, la presencia de matriz extracelular y la neovascularización. El infiltrado linfocítico es inversamente proporcional a la desmoplasia. Así, distinguimos:

- **Bien diferenciados** (figura 19): presentan una gran semejanza con las células epiteliales, se observa abundante formación de queratina en forma de perlas córneas o como queratinización celular individual. La atipia celular y el número de mitosis son mínimos. Se observa un infiltrado inflamatorio crónico peritumoral bastante marcado, formado por linfocitos y células plasmáticas.

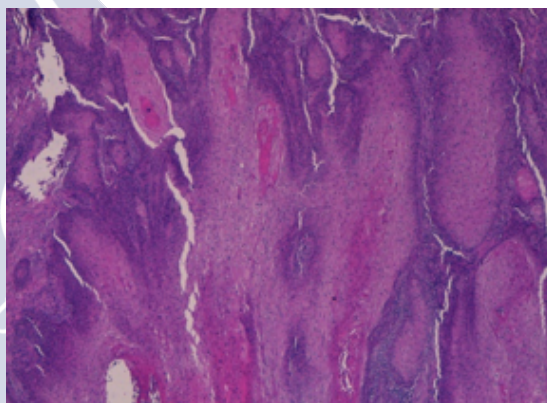


Figura 19. Carcinoma epidermoide bien diferenciado

- **Moderadamente diferenciados** (figura 20): presentan menor semejanza con las células epiteliales, y el grado de atipia nuclear, así como el número de mitosis, es mayor. Por otra parte disminuye la formación de perlas córneas y la queratinización individual.

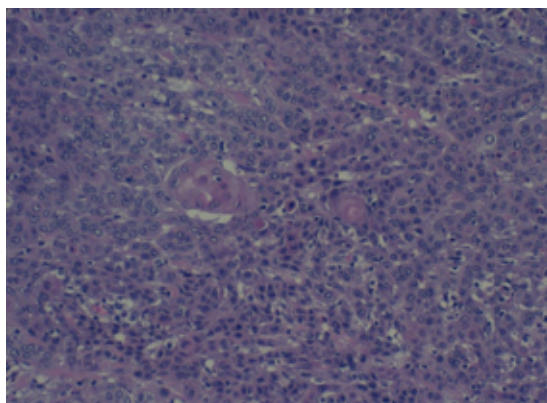


Figura 20. Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

- **Pobrementemente diferenciados** o indiferenciados (figura 21): la similitud con las células epiteliales es tan pequeña que en ocasiones es difícil establecer el origen escamoso de estos tumores y hay que recurrir a técnicas inmunohistoquímicas para demostrar si hay positividad a la citoqueratina. Existe un gran pleomorfismo nuclear y un elevado número de mitosis.

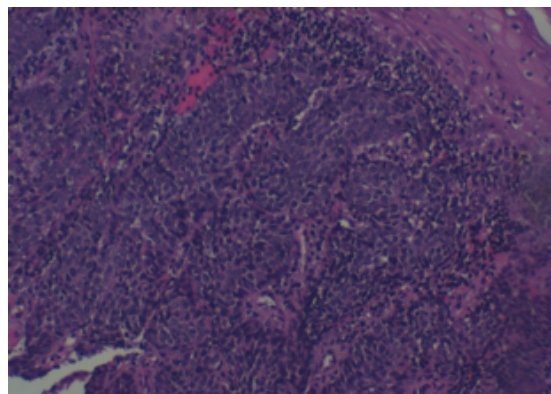


Figura 21. Carcinoma epidermoide pobremente diferenciado.

El estudio inmunohistoquímico pone de manifiesto la expresión de citoqueratinas y antígeno epitelial de membrana (EMA) en las células tumorales, con mayor expresión de queratinas de bajo peso (Cam 5,2) en los tumores de alto grado y viceversa.

En el caso de las tumoraciones cervicales, la mayor parte pueden diagnosticarse mediante punción-aspiración con aguja fina (PAAF). Si la tumoración es palpable y fácilmente accesible no precisa de control ecográfico, pero en tumoraciones más profundas o de más difícil acceso podemos realizarla mediante control ecográfico. Esta técnica, descrita por Ene-roth para el diagnóstico de las tumoraciones de las glándulas salivales (181), constituye el análisis inicial de rutina en la patología tumoral de la región cervical (182). La PAAF es un método diagnóstico seguro que cuenta, en manos de patólogos expertos, con una alta seguridad diagnóstica tanto en lesiones benignas como malignas. En el caso de que la PAAF no sea diagnóstica y sea necesario el diagnóstico histológico de la tumoración cervical, está totalmente contraindicada la biopsia incisional, debiendo realizarse una biopsia excisional de toda la tumoración (183).

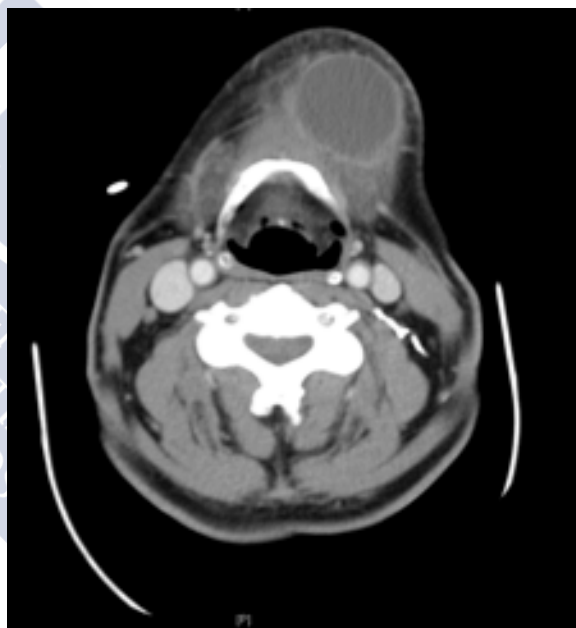


Figura 22. TC: metástasis cervical de CEO

Una vez que tenemos la confirmación histológica de carcinoma epidermoide, es necesario llevar a cabo un estudio de extensión mediante técnicas de imagen, que nos permitirá establecer la extensión del tumor primario, la afectación de estructuras circundantes, la afectación ganglionar y la presencia de metástasis a distancia o segundos tumores primarios. En nuestro centro, en base a criterios de coste-eficacia y disponibilidad, el gold standard es la tomografía computarizada (TC) (figura 22). La TC (184) es la técnica de elección si queremos visualizar la invasión ósea. Si existen dudas acerca de la invasión de tejidos blandos profundos, músculo o

afectación nerviosa, la resonancia magnética (RM) será la técnica de elección. La RM permite determinar mejor los márgenes entre tumor y músculo/grasa/moco/inflamación que la TC. La principal ventaja de la RM es que no utiliza radiaciones ionizantes; su principal desventaja es que está contraindicada en pacientes con marcapasos, clips metálicos o prótesis. El TC y la RM son también muy importantes durante la fase de seguimiento. Aunque los tratamientos realizados (cirugía, radioterapia, quimioterapia) dificultan la interpretación de las imágenes, los estudios seriados permiten la detección precoz de recidivas (185).

Recientemente la tomografía de emisión de positrones (PET) y la PET-TC han emergido como modalidad diagnóstica en los CECC. Distintos estudios han demostrado la superioridad de la PET-TC frente a la TC, la RM y la PET para la estadificación inicial del CECC (186, 187). Además, la PET-TC (figura 23) es muy importante en la detección de enfermedad a distancia y la evaluación de STP (188). En un estudio con 76 pacientes con CECC, Connell encontró que el uso de la PET-TC llevó a un cambio en el estadiaje tumoral inicialmente determinado mediante exploración física y técnicas de imagen (TC o RM) en un 34% de los pacientes (189). Xu encontró una sensibilidad para la PET y la PET/TC de un 85% y un 88% respectivamente, y una especificidad del 95% para ambas (190). En cuanto a la utilidad de la PET-TC para la detección de STP, Haerle encontró que la PET-TC detectó la presencia de estos STP en un 6,1% de los pacientes, frente a un 4,5% con las técnicas convencionales (incluyendo panendoscopia). La sensibilidad y especificidad fueron 100% y 96% para la PET-TC respectivamente, frente a un 74% y 100% para las técnicas convencionales, respectivamente (191).

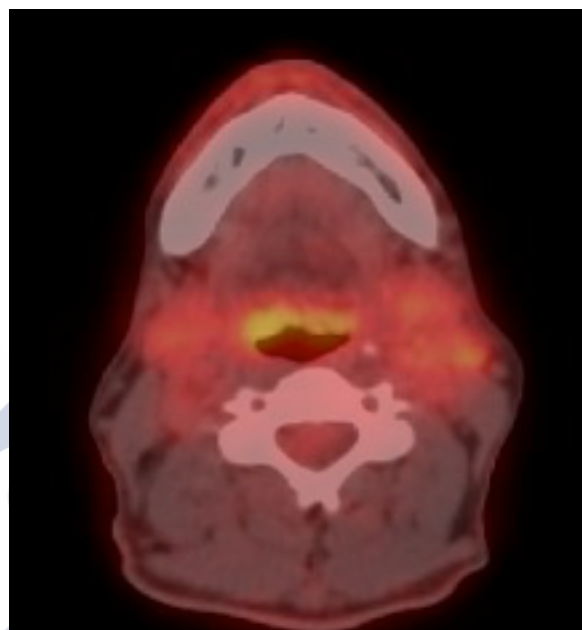


Figura 23. PET-TAC: captación a nivel local y regional

Clásicamente el estudio de extensión inicial en los CECC incluía una radiografía de tórax como parte del estudio de extensión, dado que la localización más frecuente de metástasis a distancia y segundas neoplasias en los pacientes con CECC es el pulmón (192, 193). Esta técnica posee una sensibilidad limitada para la detección de metástasis a distancia si la comparamos con otras como la TC torácica. Arunachalam comparó la sensibilidad de ambas en la valoración inicial de pacientes con CECC, encontrando un 33% para la radiografía de tórax y un 100% para la TC torácica (194). Glynn y cols recomiendan la realización de una TC torácica como evaluación inicial en pacientes con CECC en estadios III y IV, cuestionando su rentabilidad en pacientes con tumores en estadios más precoces (195).

2.1.5 Estadíaje

La estadificación de los tumores mediante el sistema “TNM” fue desarrollada por Pierre Denoix en Francia entre los años 1943 y 1952 (196) y ha sido aceptada por la International Union Against Cancer (UICC) y por la American Joint Committee on Cancer (AJCC). Este sistema se basa en 3 ítems: el tamaño y extensión del tumor primario (T), la afectación de los ganglios linfáticos regionales (N) y la presencia o ausencia de metástasis a distancia (M). De acuerdo con estos parámetros, este sistema permite definir un estadio tumoral para cada tumor, desde el I al IV; existen subdivisiones dentro de cada estadio, denominadas con las letras a, b o c. En general, los estadios tempranos comprenden el I y el II y los estadios avanzados, el III y el IV. Un hecho importante es que, en el CEO, cualquier afectación de los ganglios linfáticos regionales clasificará el tumor como un estadio avanzado. El sistema TNM ayuda a los clínicos a la hora de establecer protocolos de tratamiento y evaluar los resultados, permite hacer valoraciones pronósticas y facilita el intercambio de información y la comparación de resultados entre distintos centros. El TNM ha demostrado su utilidad en la mayor parte de los cánceres (197, 198). Se describen cuatro clasificaciones TNM:

- Clasificación clínica: se basa en los datos obtenidos de la exploración física, las pruebas de imagen y las técnicas endoscópicas, antes del primer tratamiento definitivo.
- Clasificación anatomopatológica: complementa la información mediante el examen anatomopatológico de las piezas tumorales obtenidas de la intervención quirúrgica.
- Clasificación del retratamiento: se asigna al cáncer que ha recidivado tras un periodo libre de enfermedad y requiere nuevo tratamiento.
- Clasificación autopsica: tras el examen postmortem.

La clasificación TNM para los tumores de labio, cavidad oral y orofaringe es la siguiente:

- Tx: no se puede evaluar el tumor primario.
- T0: no se encuentra evidencia de tumor.
- Tis: carcinoma in situ. Las células cancerosas no han atravesado la membrana basal.
- T1: el tumor mide 2 centímetros (cm) como máximo en su mayor dimensión.
- T2: el tumor mide más de 2 cm pero no más de 4 cm.
- T3: el tumor mide más de 4 cm.
- T4: describe cualquiera de las siguientes situaciones:
 - o T4a (labio): el tumor invade estructuras vecinas, como el suelo de la boca, la piel de la cara (por ejemplo mentón o nariz), o sobrepasa la cortical ósea.
 - o T4a (cavidad oral): el tumor invade estructuras vecinas, como la musculatura extrínseca de la lengua, el seno maxilar, la piel de la cara, o sobrepasa la cortical ósea.
 - o T4a (orofaringe): el tumor invade estructuras vecinas como la laringe, la musculatura extrínseca de la lengua o la cortical ósea profundamente.
 - o T4b: tumor que invade las apófisis pterigoides, la base del cráneo o la arteria carótida interna. En el caso de cánceres de orofaringe, invasión del músculo pterigoideo lateral o la nasofaringe. En el caso de los cánceres de labio y cavidad oral, invasión del espacio masticador.

- Nx: no se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales.
- N0: no hay evidencia de tumor en los ganglios linfáticos regionales.
- N1: afectación de un único ganglio del mismo lado que el tumor primario, que mide 3 cm o menos.
- N2: describe cualquiera de estas condiciones:
 - o N2a: afectación de un único ganglio del mismo lado que el tumor primario, de más de 3 cm pero no mayor de 6 cm.
 - o N2b: afectación de más de un ganglio, pero ninguno contralateral al tumor primario ni mayor de 6 cm.
 - o N2c: afectación de más de un ganglio, alguno contralateral al tumor primario y ninguno mayor de 6 cm.
- N3: afectación de algún ganglio linfático mayor de 6 cm.

- Mx: no se puede evaluar la presencia de metástasis a distancia.
- M0: ausencia de metástasis a distancia.
- M1: presencia de metástasis a distancia.

Para facilitar el manejo durante el uso clínico, la AJCC agrupó los tumores en distintos estadios, a partir de la clasificación TNM (55). Según los valores de la T, la N y la M, se pueden clasificar los tumores en distintos estadios:

- ESTADÍO 0:
 - o TisN0M0.
- ESTADÍO I:
 - o T1N0M0.
- ESTADÍO II:
 - o T2N0M0.
- ESTADÍO III:
 - o T3N0M0.
 - o T1N1M0.
 - o T2N1M0.
 - o T3N1M0.
- ESTADÍO IVa:
 - o T4aN0M0.
 - o T4aN1M0.
 - o T1N2M0.
 - o T2N2M0.
 - o T3N2M0.
 - o T4aN2M0.
- ESTADÍO IVb:
 - o Cualquier T, N3M0.
 - o T4b, cualquier N, M0.
- ESTADÍO IVc:
 - o Cualquier T, cualquier N, M1.

Además, también podemos clasificar los tumores según el grado histológico:

- Gx: no se puede establecer el grado de diferenciación.
- G1: bien diferenciado.
- G2: moderadamente diferenciado.
- G3: pobremente diferenciado.
- G4: indiferenciado.

También podemos clasificarlos según la presencia o no de tumor residual tras el tratamiento. Para ello utilizamos la letra R:

- Rx: no se puede evaluar la presencia de tumor residual.
- R0: ausencia de tumor residual.
- R1: tumor residual microscópico.
- R2: tumor residual macroscópico.

2.1.6 Tratamiento

En primer lugar, deberíamos puntualizar la importancia que tienen los comités de tumores en este punto. Todos los CEO deberían ser presentados en un Comité Oncológico de Cabeza y Cuello, que debería estar formado por uno o varios representantes de cada una de las especialidades implicadas en el tratamiento de estos tumores: cirujano maxilofacial, otorrinolaringólogo, oncólogo médico y oncólogo radioterapeuta, además de un radiólogo y un patólogo especializados en cabeza y cuello. Este comité tiene la función de decidir cuál es el abordaje terapéutico adecuado para cada paciente, dependiendo de la localización, la extensión y otras características del tumor y del paciente. Se le deben exponer al paciente las distintas alternativas terapéuticas, basándose en guías clínicas y protocolos institucionales previamente consensuados. Un estudio prospectivo con 84 pacientes con tumores malignos de cabeza y cuello encontró que un 12% de los pacientes sufrieron un cambio en el estadiaje tumoral y un 24% en el planteamiento terapéutico tras ser presentados en el Comité Oncológico (199).

Los objetivos que persigue el tratamiento del cáncer oral son los siguientes (56):

- Curación de la enfermedad.
- Conservación de la forma y la función (o restauración de la misma).
- Minimización de las secuelas del tratamiento.
- Prevención de la aparición de segundos tumores primarios.

El tratamiento del CEO incluye en la actualidad tres modalidades terapéuticas: cirugía, radioterapia y quimioterapia, que pueden aplicarse individualmente o de forma combinada. Una última modalidad que debemos tener en cuenta son las estrategias de prevención primaria y secundaria, como por ejemplo los cambios en el estilo de vida o la quimioprevención (56). Hoy en día, en el cáncer de la cavidad oral la principal modalidad terapéutica sigue siendo la cirugía. Generalmente la terapia única se reserva para pacientes con enfermedad localizada; en estadios más avanzados suelen aplicarse terapias combinadas (200). En los estadios iniciales, tanto la cirugía como la radioterapia suelen conseguir resultados similares. La ventaja del tratamiento quirúrgico sería un elevado control local con una morbilidad limitada. La radioterapia

ofrece una menor afectación funcional, si bien los niveles de control local son algo inferiores y la incidencia de complicaciones, mayor (183).

A la hora de decidir la modalidad terapéutica más conveniente en cada caso, se tendrán en cuenta factores dependientes del tumor (localización, extensión tumoral, tratamientos previos, histología...); factores dependientes del paciente (edad, estado general, condiciones socio-familiares, estilo de vida...); y factores dependientes del equipo de tratamiento (experiencia y resultados de cada centro con los distintos protocolos terapéuticos). A igualdad de resultados en cuanto a la curación, habrá que tener en cuenta otros factores como la posibilidad de complicaciones o secuelas a largo plazo, el costo, las preferencias del paciente, etc (56).

La resección quirúrgica y la radioterapia siguen siendo los únicos tratamientos que aplicados de forma individual pueden ser curativos en el CEO. La quimioterapia como tratamiento aislado no es curativa. Se emplea como tratamiento paliativo en tumores irresecables o recidivas masivas, o de forma preoperatoria (neoadyuvancia) para reducir la masa tumoral previamente a la aplicación de un tratamiento con intención curativa con cirugía o radioterapia.

2.1.6.1 Cirugía

Como ya dijimos, constituye la principal modalidad terapéutica en el CEO. Se aplica como modalidad única en los carcinomas en estadios precoces y asociada a radioterapia o quimioterapia en estadios avanzados.

El tratamiento quirúrgico del CEO comprende 3 facetas:

- La resección tumoral.
- La disección cervical.
- La reconstrucción del defecto oncológico.

2.1.6.1.1 Resección tumoral

Se considera que la cirugía ha sido radical cuando la exéresis incluye un centímetro o más de distancia de la periferia de la lesión primaria (201). Se considera margen próximo si existe tumor a menos de 1 cm del margen de resección pero a más de 0,5 cm. Se considera margen afecto si existe carcinoma en el margen de la resección o a menos de 0,5 cm (202). Ante un margen afecto, las opciones terapéuticas incluyen la ampliación de ese margen si es técnicamente factible o la radioterapia complementaria postoperatoria, sin haber evidencia estadísticamente significativa de que mejore la supervivencia (203).

La cirugía de la resección tumoral puede consistir en distintos procedimientos:

- Glossectomía parcial/subtotal/total.
- Pelvectomía.
- Maxilectomía parcial/hemimaxilectomía/maxilectomía total.
- Mandibulectomía marginal/segmentaria (figura 24). Haremos un inciso en este apartado; a la hora de decidir la conveniencia de practicar una mandibulectomía marginal (conservando la basal mandibular o la cortical externa) o una segmentaria, debemos conocer cómo se produce la invasión de la mandíbula por el tumor (56). Los CEO pueden extenderse

hasta alcanzar la encía adherida lingual/labial/bucal de la mandíbula. El periostio actúa como una barrera protectora. El tumor avanza desde la encía adherida al alvéolo; en pacientes dentados, el tumor alcanza el hueso alveolar y de ahí pasa a la medular mandibular; por tanto, si la invasión mandibular es temprana, es posible realizar una mandibulectomía marginal, dado que la cortical inferior a las raíces dentales no se ve afectada. En pacientes edéntulos, esta opción se verá limitada por la altura mandibular disminuida debido a la reabsorción ósea, lo que facilitará que se produzcan fracturas yatrógenas durante la intervención o posteriormente. Además, en pacientes edéntulos y también en los previamente radiados, la barrera que representa el periostio presenta soluciones de continuidad que favorecen la invasión tumoral, por lo que sería más aconsejable realizar una mandibulectomía segmentaria (204, 205). Las indicaciones para llevar a cabo una mandibulectomía segmentaria son las siguientes:

- o Invasión grosera por el CEO.
 - o Tumor primario mandibular.
 - o Tumor metastásico en la mandíbula.
 - o Invasión del nervio dentario inferior o del canal dentario.
 - o Infiltración masiva de tejidos blandos adyacentes a la mandíbula.
- Faringuectomía.
 - Etc.

Para llevar a cabo este tipo de resecciones, podemos utilizar distintos abordajes; escogemos uno u otro dependiendo fundamentalmente del tamaño y la localización del tumor primario:

- Intraoral: para tumores pequeños y fácilmente accesibles (mucosa yugal, suelo de la boca, lengua móvil, paladar duro, encía...).
- Mandibulotomía: permite un mejor acceso a tumores de gran tamaño de la parte posterior de la cavidad oral y la orofaringe. La osteotomía mandibular puede hacerse en la línea media, paramediana o lateral (en el cuerpo o ángulo mandibulares).
- Pull-through.
- Visor flap o colgajo en visera.
- Weber-Ferguson.
- Etc.

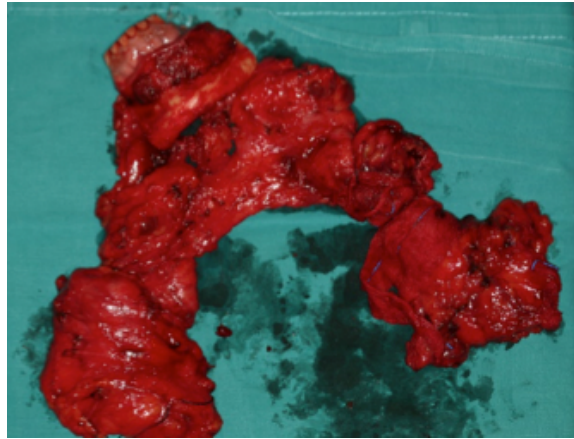


Figura 24. Pieza de resección tumoral (con mandibulectomía segmentaria) en bloque con vaciamiento cervical bilateral en CE de encía

Debemos tener en cuenta que no siempre un paciente con un CEO puede ser tratado mediante cirugía. Las posibles causas de esto son (183):

- Tumores técnicamente irresecables. Este término resulta un tanto ambiguo en tanto que no existe unanimidad en cuanto a lo que se considera “técnicamente irresecable”. La UICC, en un intento de concretar los criterios de irresecabilidad, creó la categoría T4b del sistema TNM (198); en estos pacientes existe un cierto consenso en considerar que no serían candidatos a tratamiento quirúrgico. Esta categoría incluiría, para los tumores de la cavidad oral y el labio, la afectación del espacio masticador, las apófisis pterigoides, la base del cráneo o la arteria carótida interna. En cuanto a los tumores de la orofaringe, la categoría T4b incluiría la afectación del músculo pterigoideo lateral, las apófisis pterigoides, la pared lateral de la nasofaringe, la base del cráneo o la arteria carótida interna.

Adelstein estableció unos criterios de irresecabilidad que incluyen además un concepto funcional. Para Adelstein, los tumores irresecables de la cavidad oral serían aquellos en los que la lesión sea tan extensa que no sea posible una reconstrucción funcional; en la base de la lengua, serían irresecables aquellos tumores con una infiltración en profundidad de la misma; en la región amigdalara, serían irresecables los tumores con una clara extensión a la región pterigoidea, manifestada por la presencia de trismus o demostrada por técnicas de imagen, además de aquellos tumores que se extiendan más allá de la línea media por la pared posterior de la faringe y aquellos con extensión directa del tumor a los tejidos blandos del cuello (206).

Los avances en las técnicas de reconstrucción, sobre todo con la aparición de los colgajos libres microvascularizados, han aumentado enormemente las barreras de irresecabilidad, al permitir la reconstrucción de defectos de gran tamaño con resultados estéticos y funcionales más que aceptables.

- Tumores técnicamente resecables pero en los que existen pocas posibilidades de conseguir un control de la enfermedad con la cirugía. En este grupo incluimos a pacientes con tumores que técnicamente son resecables pero que existen pocas posibilidades de control de la enfermedad aun añadiendo tratamientos coadyuvantes, debido a la localización y/o extensión tumoral. No existen criterios establecidos que definan este grupo de pacientes. En ellos deberíamos valorar la posibilidad de tratamientos alternativos no quirúrgicos que puedan conseguir un control de la enfermedad no inferior al tratamiento con cirugía.
- Pacientes no candidatos a cirugía por su mal estado general.
- Cirugías mutilantes (pacientes candidatos a los protocolos de preservación de órgano).

En este grupo de pacientes la cirugía es técnicamente posible y las posibilidades de control de la enfermedad son elevadas. El concepto de preservación de órgano surge inicialmente en pacientes con carcinomas epidermoides de laringe e hipofaringe cuyo tratamiento incluía una laringectomía total. En los años 90 se publicaron distintos ensayos clínicos que demostraron que la quimioterapia de inducción con platino y el tratamiento con radioterapia en los pacientes que respondían a la quimioterapia de inducción, conseguía unas cifras de supervivencia similares que el tratamiento con cirugía y radioterapia postoperatoria, conservando la función laríngea en un alto porcentaje de casos (207, 208). Otros

estudios encontraron una mayor supervivencia añadiendo docetaxel a la quimioterapia de inducción (209). Una alternativa a la quimioterapia de inducción y radioterapia posterior en la conservación de órgano es la quimiorradioterapia concomitante (7).

- Pacientes que rechazan el tratamiento quirúrgico.

2.1.6.1.2 Disección cervical

Más del 50% de los pacientes con CEO presentan metástasis en los ganglios linfáticos del cuello (210) y el tratamiento del cuello en el CEO se considera uno de los aspectos más importantes en el abordaje terapéutico del mismo. La presencia de ganglios linfáticos cervicales afectados por CEO representa el factor pronóstico individual más importante para la supervivencia (211, 212), disminuyendo casi a la mitad en el caso de afectación ganglionar (212, 213). Leemans encontró que el número y tamaño de las metástasis cervicales estaba directamente relacionado con la probabilidad de muerte por cáncer (214). López-Cedrún, en su serie de 64 pacientes con carcinoma epidermoide avanzado de lengua y suelo de boca, encontró que el número de ganglios afectados y la invasión extracapsular eran dos de los tres factores más importantes en relación con la supervivencia (215). Layland, encontró que en CE de la cavidad oral y la orofaringe, los pacientes N0 tenían una supervivencia libre de enfermedad significativamente más alta que los pacientes N+ y que la supervivencia era mejor en pacientes N1 que en N2-N3 (216). El realizar una disección cervical o no en un paciente con un CEO va a depender de la presencia o no de ganglios linfáticos sospechosos de afectación o de los factores de riesgo para la afectación de los mismos, como son la localización, el tamaño y el espesor tumorales (212). Shear encontró como factores predictivos de la afectación ganglionar el tamaño, la localización y el grado de diferenciación (217). Para Yamamoto, el principal factor de riesgo fue el tipo de invasión tumoral (218). Para Okamoto, la queratinización y factores clínicos (219). Para Borges, la invasión perineural y el espesor tumoral (220). Para Martínez-Gimeno, los principales factores predictores fueron la afectación microvascular y la interfase tumoral (221). Sin embargo, muchos de estos factores sólo pueden conocerse tras el estudio histológico definitivo de la pieza tumoral, por lo que su aplicación clínica es limitada.

La sensibilidad de la combinación de la exploración física y la tomografía computarizada en el diagnóstico de las metástasis cervicales sería de entre un 85% y un 90% (216). Por tanto el 10-15% restante representaría un grupo significativo de pacientes clínicamente N0 pero que tendrían metástasis cervicales subclínicas. Magnano encontró que un 13,8% de los cuellos clínicamente N0 presentaban enfermedad metastásica en el estudio histológico (222). Snyderman encontró un 41%. Khafif, entre un 20 y un 50% (223). Layland encontró que un 7,5% de los pacientes N0 a los que se les realizó un vaciamiento cervical electivo, presentaron afectación ganglionar en el examen histológico; un 4,5% fueron pN2; y la supervivencia libre de enfermedad de los clínicamente N0 pero pN+ fue significativamente más baja que los N0 y similar a los clínicamente N+ (216). La incidencia de metástasis ocultas en los ganglios cervicales en los distintos estudios varía de un 6% a un 46%, pudiendo encontrarse incluso en tumores primarios muy pequeños. Esta gran variabilidad se debe en parte a que las técnicas de análisis histológico tradicional de la disección cervical pueden no detectar células neoplásicas aisladas y micrometástasis. Cuando se utilizan técnicas nuevas con mayor sensibilidad, esta incidencia se ve disminuida (224). Las técnicas más novedosas incluyen la inmunohistoquímica y el estudio molecular.

Clásicamente, la disección cervical se ha dividido en los siguientes grupos:

- Terapéutica: cuando se realiza para tratar metástasis linfáticas detectadas con la exploración física o las técnicas de imagen.
- Oportuna: cuando el abordaje para la exposición y exéresis del tumor primario se realiza a través del cuello. Este tipo de actitud ha quedado en desuso.
- Electiva: cuando no se detectan metástasis linfáticas durante la exploración física o con las técnicas de imagen pero el riesgo de metástasis linfáticas microscópicas es más alto que el riesgo asociado a la disección cervical y sus complicaciones.

Nadie duda del importante efecto terapéutico de la disección cervical en el pronóstico del CEO. Sin embargo, el papel de la disección cervical electiva siempre ha sido un tema de controversia. Existen muy pocos ensayos clínicos controlados aleatorizados referentes a este tema. Vandembrouck comparó en 75 pacientes con CEO el vaciamiento cervical radical electivo con una actitud de vigilancia respecto al cuello; el porcentaje de ganglios linfáticos positivos fue de 49% en el grupo de disección cervical frente a un 47%, sin diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la supervivencia (225). Fakih encontró mejor supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad para la disección cervical electiva en pacientes con carcinoma epidermoide de lengua; además encontró que el beneficio de la disección cervical era mayor en tumores con un espesor mayor de 4 mm (226). Kligerman encontró un 42% de recurrencias en el grupo sin disección cervical frente a un 24% en el grupo de disección cervical electiva, con una supervivencia a los 3,5 años de 49% frente a un 72%, respectivamente (227). Estos datos nos sugieren que la disección cervical electiva ofrece ventajas en cuanto a supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad.

El primero en describir un vaciamiento cervical fue George Crile en el 1906 (228). El clásico vaciamiento cervical radical incluía el sacrificio del músculo esternocleidomastoideo, el nervio espinal y la vena yugular interna. El primero en sugerir la posibilidad de un vaciamiento cervical más selectivo, conservando el nervio espinal, fue Ward en el 1951 (229). Desde entonces, se han desarrollado distintas técnicas para preservar la vena yugular interna, el músculo esternocleidomastoideo, el nervio espinal y parte de los ganglios linfáticos cervicales. En los años 80, distintos estudios compararon los resultados del vaciamiento radical y el vaciamiento radical modificado, demostrando que ambos tenían los mismos resultados oncológicos, con un mayor compromiso funcional y dolor de hombro para los pacientes sometidos a la clásica disección cervical radical. Hoy en día, el vaciamiento selectivo supraomohioideo incluyendo los niveles I a III está bien establecido como tratamiento electivo del cuello en el CEO. Algunos autores también lo han utilizado con éxito en cuellos positivos, con afectación cervical limitada a los niveles superiores, sin poner en peligro el control regional. Estos autores se basan en el buen pronóstico en los pacientes con metástasis cervicales únicas en niveles I o II y en el bajo porcentaje de afectación del nivel V en el CEO. Además, es bien conocido el alto porcentaje de falsos positivos en cuellos clínicamente positivos en el CEO. Sin embargo, el papel del vaciamiento supraomohioideo en el cuello clínicamente positivo es todavía controvertido.

Distintos estudios han demostrado que la extensión ganglionar en las metástasis ganglionares cervicales sigue un patrón predecible en los pacientes con carcinoma epidermoide de la cavidad oral y la orofaringe (212). Según estos estudios, cada localización primaria tendería a metastatizar en determinados niveles ganglionares. Los niveles de mayor riesgo de afectación

serían los niveles I, II y III (230). El nivel IV se vería afecto entre un 3% y un 28%, dependiendo de la localización del tumor primario (230). En el caso de que haya ganglios clínicamente positivos (N+), los niveles en riesgo son del I al IV (212, 213, 230). El nivel V, en cambio, raramente se ve afectado en los CEO (212, 230). En pacientes clínicamente N0, el vaciamiento cervical selectivo incluyendo los niveles I a III resulta un tratamiento adecuado (227, 231).

El Grupo Brasileño para el Estudio del Cáncer de Cabeza y Cuello diseñó un ensayo clínico controlado y aleatorizado para comparar la disección cervical electiva supraomohioidea con la disección cervical radical modificada en pacientes con CE de la cavidad oral; no encontró diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en cuanto a recidivas o supervivencia global, con una disminución muy importante en el porcentaje de complicaciones y mejores resultados estéticos y funcionales en el grupo de la disección supraomohioidea (232). Carvalho encontró que en CEO en los que practicaba disección cervical electiva supraomohioidea el porcentaje de recidiva cervical ipsilateral fue de un 4,5% y que casi la mitad de estas recidivas se producían dentro de los límites de la disección cervical previa, lo que avala la seguridad de la disección cervical selectiva (233). Robbins afirma que, salvo que el tratamiento de elección de la lesión primaria sea la radioterapia, el vaciamiento cervical electivo (incluyendo los niveles I a III y el IV en el caso de tumores linguales) es el mínimo tratamiento recomendado en los carcinomas epidermoides de la cavidad oral clínicamente N0 (234). Byers encuentra un 15% de metástasis ocultas en el nivel IV en carcinomas epidermoides de lengua, sugiriendo que en esta localización el nivel IV debería ser incluido en el vaciamiento cervical selectivo (235). Woolgar también aconseja esta actitud (236). Khafif encuentra que este porcentaje es sólo un 2%, concluyendo que en carcinomas epidermoides de lengua T1-T3 N0 las metástasis linfáticas en el nivel IV son raras y recomendando por tanto incluir este nivel cuando intraoperatoriamente haya algún ganglio macroscópicamente sospechoso en los niveles II o III (237).

En pacientes clínicamente N+, el tratamiento clásico ha sido el vaciamiento radical o el vaciamiento radical modificado, conservando el músculo esternocleidomastoideo, el nervio espinal y la vena yugular interna siempre que no haya dudas de la afectación de estas estructuras (228). Sin embargo las secuelas estéticas y funcionales, como la disfunción del hombro y el dolor crónico en cuello y hombro, han llevado a la búsqueda de alternativas menos agresivas sin empeorar los resultados oncológicos. Kolli encontró que el control regional conseguido con el vaciamiento supraomohioideo en pacientes con ganglios patológicamente positivos y negativos era 71% y 88% respectivamente, lo que sugiere que este tipo de vaciamiento no resulta suficiente en pacientes con ganglios clínicamente positivos confirmados patológicamente (238). Sin embargo, la radioterapia podría mejorar el control regional en estos pacientes. Andersen defiende que el vaciamiento cervical supraomohioideo puede ser seguro en casos seleccionados de CE del tracto aerodigestivo superior, encontrando porcentajes de control regional comparables a los conseguidos con otros vaciamientos cervicales más agresivos y menos selectivos (239). Traynor sugiere que en pacientes con N2b y N2c podría realizarse un vaciamiento supraomohioideo si no existe linfadenopatía masiva, fijación del ganglio, extensión extracapsular grosera o cirugía del cuello previa (240). Spiro en cambio encuentra mayor porcentaje de fallo del tratamiento cuando se practica un vaciamiento supraomohioideo en cuellos clínicamente positivos, a pesar de la radioterapia postoperatoria (241). La mayor parte de los estudios que defienden la disección cervical selectiva en cuellos clínicamente positivos incluyen pocos pacientes, con poco seguimiento, no son prospectivos o no comparan la disección cervical selectiva con la funcional o radical. Por tanto, este tema sigue siendo controvertido. Liang en el 2015

publicó un meta-análisis, incluyendo cinco estudios con un total de 443 pacientes; no encontró diferencias significativas en cuanto a la recidiva regional ni a la supervivencia global o específica, entre el vaciamiento funcional y el selectivo, concluyendo que el vaciamiento selectivo junto con radioterapia adyuvante en el CEO consigue resultados comparables al vaciamiento funcional (242).

La filosofía de la disección cervical está evolucionando respecto a la exéresis selectiva de los niveles en riesgo. En la actualidad se tiende a sustituir el vaciamiento radical modificado por el vaciamiento selectivo en la enfermedad ganglionar temprana (243). Puede que en el futuro el vaciamiento selectivo combinado con radioterapia o quimioterapia se convierta en el tratamiento estándar en la enfermedad ganglionar avanzada (244). La prevalencia de metástasis linfáticas en el nivel V es baja en pacientes N0 y N+ con un único nivel anterior afecto; por tanto el vaciamiento selectivo sería un tratamiento adecuado para estos casos. En CE T3-T4 siempre deberíamos realizar una disección cervical, dada la alta incidencia de metástasis linfáticas (245); si el cuello es clínicamente positivo deberíamos incluir los niveles IV y V; pero si la afectación linfática está limitada mediante la valoración intraoperatoria a los niveles I y II, lo más adecuado sería incluir sólo los niveles I a IV (234). Probablemente en el futuro, abordajes más selectivos, como la disección cervical superselectiva, podrían sustituir al vaciamiento cervical selectivo (246).

En tumores próximos a la línea media o que la cruzan, la disección cervical debería ser bilateral, dado que en estos casos los ganglios de ambos lados están en riesgo de contener metástasis linfáticas (247). Otros autores, como Koo, defienden el tratamiento del cuello contralateral con cirugía o radioterapia en CE de la cavidad oral con ganglios ipsilaterales positivos, estadios T avanzados o cuando el tumor cruza la línea media (248).

El objetivo del tratamiento del cuello en el CEO es prevenir la recidiva regional. Los datos histológicos de las metástasis cervicales que han sido relacionados de forma independiente con el riesgo de recidiva regional son el número de ganglios afectados (249), la extensión extracapsular (239), la invasión perineural (250) o el estadio T avanzado (251). El riesgo de recidiva cervical en pacientes pN+ es casi cuatro veces mayor que en pacientes N0 (9.7% vs 2.6%) (252).

TÉCNICA DE LA BIOPSIA DEL GANGLIO CENTINELA:

Durante años se ha debatido sobre el manejo del cuello clínicamente negativo en estadios tempranos T1 y T2, optando la mayoría de los grupos por vigilancia en estadios T1 y disección cervical electiva en los T2. La biopsia de ganglio linfático centinela (SLNB) es una modalidad que tiene potencial para aumentar la precisión de la estadificación del cuello; y aunque actualmente no se usa tan ampliamente en la cabeza y el cuello como en otras áreas, como el cáncer de mama, esta técnica está ganando popularidad en el manejo de estos cánceres (253), (254).

Los objetivos principales del SLNB son identificar con precisión las metástasis en los ganglios linfáticos sin la necesidad de disección cervical, minimizando así la morbilidad de una cirugía potencialmente innecesaria y facilitando el tratamiento de pacientes con o sin enfermedad nodal. La eficacia de SLNB se basa en el principio de progresión ordenada de las metástasis del carcinoma primario a un ganglio linfático centinela o grupo de ganglios en la región del drenaje

linfático, antes de extenderse a otros ganglios linfáticos regionales (255).

A pesar de esto todavía continúa realizándose en muy pocos centros para el tratamiento de los carcinomas epidermoides de cabeza y cuello. El procedimiento SLNB estándar implica una inyección peritumoral de un trazador coloidal marcado con ^{99m}Tc , con mapeo del drenaje mediante linfoescintigrafía. Aunque algunos autores han obtenido mejores resultados empleando la combinación de colorante y radiotrazador (técnica mixta), actualmente ya no se considera el inyectar azul vital, y se localiza el ganglio centinela sólo en función de la radioactividad emitida por el mismo. Recientemente, el SPECT/CT se utiliza para detectar el ganglio centinela, ya que detecta más ganglios que sólo con linfoescintigrafía. Sin embargo, sigue siendo un desafío visualizar los ganglios centinela en estrecha relación espacial con el sitio de inyección, especialmente con tumores en el suelo de la boca (256). Tras la linfoescintigrafía se realiza la biopsia quirúrgica del ganglio o los ganglios centinela. La valoración histopatológica debe incluir las técnicas de sección múltiple y el estudio inmunohistoquímico; sólo con todo esto es posible detectar las micrometástasis.

Hay autores que han sugerido que para la biopsia precisa deben tomarse como muestra para la histología los tres ganglios centinelas más calientes en el mapeo del radiotrazado (257).

En 2002, se inició un estudio europeo multistitucional, en carcinomas epidermoides de cabeza y cuello en estadios tempranos (T1-T2), con ganglios centinela identificados en el 93% de los casos. La capacidad de identificar el ganglio centinela fue menor en los pacientes con carcinomas de suelo de boca en comparación con otras localizaciones (88% vs 96%). Los cánceres en el suelo de la boca tuvieron un valor predictivo negativo (VPN), en comparación con otras localizaciones, del 88% versus 98%. Con un seguimiento mínimo de 5 años, la sensibilidad general del procedimiento fue del 91% (258). El estudio concluyó que SLNB puede ser utilizado en el estadio del carcinoma epidermoide oral, excepto en el suelo de la boca (254).

El SENT (Sentinel European Node Trial), con 14 centros dentro del estudio, concluye que el SLNB es seguro y fiable para la estadificación del cuello clínicamente N0 en pacientes con tumores T1 / T2 (259).

En cuanto a la sensibilidad de la técnica, nos encontramos con las siguientes cifras según diferentes grupos de trabajo, desde 80% (260) al 86-88% (259, 261). Mientras que las cifras del valor predictivo negativo oscilan desde 88% (260) al 94-95 (259, 261).

Otra área de interés es la cirugía de navegación en el ganglio centinela, donde parece que su empleo aumenta la supervivencia de los pacientes frente a los pacientes en los que se realizó sólo observación (262).

En cuanto a la relación coste-beneficio de la técnica, los estudios argumentan que SLNB es más rentable en comparación con la disección cervical (254).

Concluimos por tanto que SLNB continúa ganando aceptación en todo el mundo como una alternativa efectiva a la disección cervical en el carcinoma epidermoide de cabeza y cuello. Las publicaciones disponibles hasta la fecha sugieren que el SLNB nos reporta una tasa de falsos negativos razonable. Además, existen datos que sugieren que tanto la morbilidad como el coste del tratamiento pueden reducirse con SLNB en comparación con la disección cervical electiva.

No se han demostrado diferencias en la supervivencia entre los dos procedimientos, lo que sugiere que SLNB puede realizarse sin una reducción significativa en la supervivencia. Además, las diferencias en la supervivencia entre los pacientes SLNB-positivos y SLNB-negativos apoyan la conclusión de que el procedimiento proporciona información pronóstica similar a la disección del cuello (254). Por tanto, el SNB es una técnica oncológica fiable y segura para la estadificación clínica del cuello N0 en pacientes con carcinoma epidermoide oral T1 y T2 (259).

2.1.6.1.3 Reconstrucción del defecto oncológico.

La resección de tumores en la cavidad oral y la orofaringe puede llevar a mutilaciones importantes que, además de ser muy visibles, producen el menoscabo de funciones primordiales para el ser humano, como la deglución o la fonación, entre otras. Esto puede llevar a una limitación muy importante de la calidad de vida de los pacientes, tanto que limite el tratamiento a realizar. Aunque el objetivo más importante de la cirugía oncológica sea la curación del paciente, no debemos olvidarnos de la importancia de la calidad de vida residual, por lo que la recuperación de la forma y la función del área maxilofacial debe ser considerada un objetivo de similar importancia a la hora de planificar el tratamiento (263).

- Si el defecto oncológico es pequeño, en ocasiones puede realizarse un cierre borde a borde, uniendo los extremos del defecto.
- En otros casos, puede ser conveniente dejar alguna zona cruenta en vez de un cierre borde a borde que llevaría a un peor resultado funcional (anquiloglosia, limitación de la apertura oral...).
- Cuando se puede producir una pérdida estética o funcional tras la resección de la lesión primaria, recurrimos a la cirugía reconstructiva para evitar esta pérdida. Por tanto, la pérdida de una parte importante de la lengua, el suelo de la boca, la mucosa yugal o de un segmento de la mandíbula, serían indicadores para la realización de una cirugía reconstructiva. Las distintas técnicas reconstructivas para el CEO serían:

- o Injertos libres de piel, para determinados defectos superficiales de pequeño tamaño.
- o Colgajos locales. Obtenidos de zonas cercanas al defecto a reconstruir, como la lengua, el labio o la región nasogeniana. También limitados a defectos de pequeño tamaño.
- o Colgajos regionales pediculados. Indicados en defectos de mayor tamaño y espesor. Aportan tejidos vitales desde zonas vecinas que, a través de un pedículo axial, proporcionan tejido cutáneo, muscular e incluso óseo para la reconstrucción del defecto. Los más utilizados son los miocutáneos, el de pectoral mayor y el de dorsal ancho; otros serían el deltopectoral, el de esternocleidomastoideo, etc. Este tipo de colgajos puede utilizarse en pacientes de

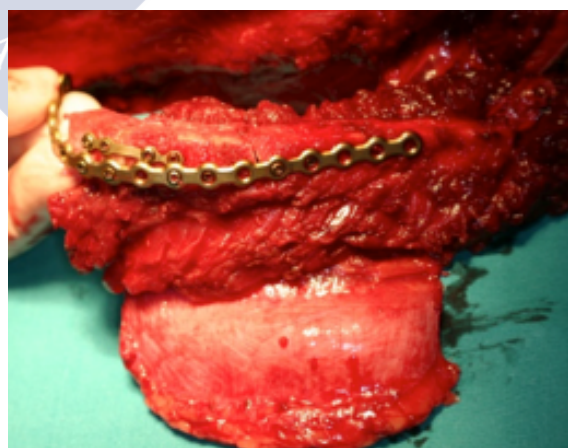


Figura 25. Reconstrucción del defecto oncológico debido a CE de encía con colgajo libre osteomiocutáneo de peroné.

edad avanzada o con comorbilidad, en los que las reconstrucciones microquirúrgicas más complejas estarían contraindicadas o presentarían una alta morbilidad. El tiempo operatorio no aumenta mucho, aunque el tallado del colgajo no puede realizarse simultáneamente a la resección tumoral (no pueden utilizarse dos equipos quirúrgicos simultáneos). Presentan menor versatilidad que los colgajos libres por el arco de rotación del pedículo, pero menor índice de necrosis. Algunos ejemplos serían el colgajo de músculo pectoral mayor, el colgajo de músculo temporal, el colgajo de músculo buccinador, colgajo de fascia témporo-parietal, colgajo de músculo dorsal ancho...

o Colgajos libres microvascularizados (figura 25). Consisten en el aporte de tejido procedente de zonas distantes al defecto, con su pedículo vascular, que se traslada y se anastomosa a los vasos de la zona donante. La aparición de esta técnica reconstructiva ha supuesto un gran avance en la oncología de cabeza y cuello. Además de mejorar la calidad de vida de los pacientes, ha mejorado el control de la enfermedad, ya que la posibilidad de reconstruir grandes defectos permite una mayor agresividad en las resecciones, lo que lleva a un resultado oncológico más radical. Algunos de los colgajos libres más utilizados para la reconstrucción del CEO serían el colgajo fasciocutáneo antebraquial, el colgajo osteomiocutáneo de peroné, el colgajo fasciomusculocutáneo anterolateral de muslo, etc. El colgajo antebraquial proporciona un recubrimiento mucoso excelente para defectos superficiales de la cavidad oral y la orofaringe, además de constituir una excelente opción para la reconstrucción de defectos linguales de tamaño moderado. Para defectos linguales de mayor tamaño suelen ser necesarios otros colgajos que aportan más cantidad de tejido, como el de músculo recto abdominal o el anterolateral de muslo. El colgajo libre de peroné es hoy en día el colgajo de elección para la reconstrucción de resecciones segmentarias de la mandíbula. Otros colgajos que podrían ser utilizados para la reconstrucción mandibular serían el de cresta ilíaca o el escapular. El primero proporciona tanto hueso como tejidos blandos y piel para la reconstrucción de defectos complejos; el segundo también proporciona componente óseo, muscular y cutáneo, separados pero con un mismo pedículo, por lo que resulta muy versátil. La elección de un colgajo u otro dependerá de la localización y la longitud del defecto mandibular, además de la necesidad de tejidos blandos y recubrimiento mucoso o cutáneo para el defecto (264).

2.1.6.2 Radioterapia

Aunque la principal modalidad de tratamiento en el CEO ha sido y sigue siendo la cirugía, la radioterapia representa un arma terapéutica esencial, dado que afecta sólo a las células del área tratada y la extensión del CEO suele ser predominantemente locorregional; además, es el único tratamiento curativo no quirúrgico en el CEO. La radioterapia puede utilizarse con intención curativa tanto en estadios precoces como avanzados; además, tiene un papel nada desdeñable como tratamiento paliativo (183). Puede emplearse como tratamiento único o en combinación con cirugía y/o quimioterapia; como terapia única suele utilizarse en tumores pequeños o en pacientes que no pueden o no quieren operarse; también puede utilizarse antes de la cirugía para disminuir el tamaño tumoral; o después de la cirugía para destruir las células tumorales residuales (265).

Su mecanismo de acción es a través del daño al ADN, por lo que las células y tejidos con un alto índice de recambio celular son las más sensibles a los efectos de la radiación; así, los mecanismos de reparación del ADN (generalmente menos efectivos en células cancerígenas que en células normales) no pueden ejercer su función y las células mueren (265). Esto lleva a que las células normales no cancerígenas que proliferan rápidamente se vean inevitablemente afectadas por la radioterapia; por tanto, el pelo, las glándulas salivales y las mucosas suelen sufrir los efectos secundarios de la radiación.

La radioterapia puede ser aplicada mediante dos modalidades (61, 265):

- Radioterapia externa: la irradiación del paciente se produce por medio de una fuente externa de partículas aceleradas. Suele administrarse de forma ambulatoria diariamente, generalmente 5 días a la semana, durante varias semanas. En el cáncer de cabeza y cuello, el esquema de dosis suele consistir en una única dosis diaria de 1.8 a 2 Gy, 5 días a la semana, hasta alcanzar una dosis total de 66 a 70 Gy (aproximadamente 6-7 semanas). Este método de dividir la dosis total, conocido como fraccionamiento, se ha visto modificado a lo largo de los años, basándose en la biología de los tumores y de los tejidos sanos. Existen dos tipos principales de fraccionamiento modificado:

- o Hiperfraccionamiento: utiliza dosis múltiples en un día, más pequeñas, con una duración similar al fraccionamiento convencional, proporcionando una dosis total mayor. Generalmente se administran dos dosis diarias de 1.1 a 1.2 Gy, hasta una dosis total de 74 a 80 Gy.
- o Fraccionamiento acelerado: utiliza dosis similares al fraccionamiento convencional en un tiempo menor. Estos esquemas han sido desarrollados hace pocos años con el fin de solventar el problema de repoblación de las células tumorales durante el tratamiento radioterápico.
- o Se han intentado otras variedades de fraccionamiento, como el CHART (radioterapia continua acelerada hiperfraccionada), el IMRT (radioterapia de intensidad modulada) o la radioterapia guiada por imagen.

La revisión de la Cochrane del 2010 que trata de establecer el mejor régimen de radioterapia concluye que los fraccionamientos modificados consiguen una mejora en el control locorregional y en la supervivencia global en pacientes con CEO; en cuanto a la supervivencia libre de enfermedad las diferencias no llegaron a la significación estadística, aunque la dirección del efecto fue hacia los fraccionamientos modificados; parece que los beneficios serían mayores en el caso del hiperfraccionamiento que en el fraccionamiento acelerado (265).

- Braquiterapia: la radiación procede de un material radiactivo en forma de semillas o agujas que se coloca directamente en el tejido a irradiar. Los pacientes deben estar hospitalizados el tiempo que dure el tratamiento, generalmente varios días. La dosis de radiación es mayor en el tumor y se irradian menos los tejidos sanos circundantes. Este tipo de modalidad se reserva principalmente para tumores pequeños y accesibles como para permitir la colocación de los implantes radiactivos pero lo suficientemente alejados del hueso para evitar osteorradionecrosis (179). También puede utilizarse en tratamientos de rescate ante recidivas locales (179). Los grandes tumores inoperables o las recidivas tumorales pueden ser otra indicación de la braquiterapia.

En cuanto a los efectos secundarios de la radioterapia, suelen dividirse en:

- Agudos: los que ocurren en los primeros 3 meses después de iniciar el tratamiento con radioterapia. Los principales son la radiodermatitis y la mucositis. Su severidad aumenta con la dosis diaria. El espaciamiento interfacción de al menos 6 horas parece mejorar algo este aumento de toxicidad.
- Tardíos: ocurren más tarde de los primeros 3 meses tras iniciar el tratamiento con radioterapia. Incluirían la fibrosis, necrosis, mielitis, xerostomía y disfagia, entre otros. La severidad aumenta con los fraccionamientos modificados con un cociente dosis/fracción mayor de 1.1 Gy e intervalos interfacción de menos de 5 horas. Ang encontró que la cantidad de radiación en cada fracción era un factor más importante que la duración de la terapia en cuanto al daño tardío sufrido por los tejidos sanos circundantes (266).

Se ha considerado que la mayor limitación para los fraccionamientos modificados en el cáncer de cabeza y cuello (y para la radioquimioterapia combinadas) es fundamentalmente la mucositis (267).

La xerostomía probablemente represente la secuela más frecuente y debilitante a largo plazo de la radioterapia. Su gravedad va a depender de la dosis total, de la fuente y el fraccionamiento y de los campos de administración. La radiación elimina y atrofia las glándulas salivales, afectando la producción de saliva; esto empeora con la administración concomitante de quimioterapia. La xerostomía provoca molestias orales, problemas de tolerancia de las prótesis dentales, incrementa el riesgo de caries y de sobreinfección por candidiasis oral y dificulta funciones como la alimentación y la fonación, empeorando significativamente la calidad de vida de los pacientes.

Otra complicación seria de la radioterapia en el CEO es la osteorradionecrosis de la mandíbula. El trauma y la infección representan factores predisponentes para su aparición, dado que producen una necrosis aséptica del hueso mandibular (268). Otros factores que influyen en la frecuencia de aparición de osteorradionecrosis serían: la dosis de radiación recibida por la mandíbula, el tamaño del campo a radiar y el tiempo transcurrido desde las extracciones dentarias (269, 270). El tratamiento de la osteorradionecrosis consiste en desbridamientos o resección quirúrgica y oxigenación en cámara hiperbárica (268, 270). Resulta fundamental el tratamiento de todos los posibles focos dentales de infección antes de iniciar el tratamiento radioterápico para prevenir la aparición de esta complicación.

2.1.6.3 Quimioterapia

La quimioterapia consiste en la administración de drogas citotóxicas que atacan las células cancerígenas, deteniendo su crecimiento y destruyéndolas. Los fármacos utilizados afectan al ciclo celular, casi siempre a través del daño del ADN, impidiendo que las células se reproduzcan. Dado que se distribuyen por el torrente sanguíneo, el efecto de estos fármacos es sistémico, lo que resulta muy útil en tumores con alto riesgo de metástasis a distancia. Los fármacos quimioterápicos interrumpen el ciclo celular en distintos puntos, por lo que la combinación de varios agentes puede producir un efecto mayor o de duración más prolongada; sin embargo,

esta combinación también puede estar asociada a un aumento de la toxicidad, que será mayor todavía si se asocia a radioterapia (271).

La mayor parte de las drogas quimioterápicas se administran por vía intravenosa, aunque pueden utilizarse otras vías como la oral, intramuscular, intraarterial o intratumoral.

Normalmente los regímenes de quimioterapia consisten en la administración diaria durante varios días seguidos de días de descanso, dependiendo del agente y la dosis utilizados.

Los efectos secundarios, aunque generalmente son temporales, pueden llegar a ser graves, y se deben al efecto de las drogas quimioterápicas sobre las células normales del organismo. Los principales efectos secundarios de la quimioterapia consisten en náuseas y vómitos, alopecia, cansancio, diarrea o estreñimiento, mucositis, supresión de las series sanguíneas (con el mayor riesgo de infección, anemia y hemorragia que esto conlleva), disfunción renal, hipoacusia, neuropatía, efectos sobre la fecundidad y otros. El rango de toxicidad va a depender del fármaco utilizado y de la posología (56). Esta toxicidad puede exigir el ingreso hospitalario del paciente para vigilancia. Los periodos de descanso entre los ciclos de quimioterapia permiten al paciente recuperarse de los efectos adversos antes de iniciar el siguiente ciclo.

La quimioterapia en el cáncer de cabeza y cuello empezó a investigarse a partir de 1970. La indicación inicialmente era el tratamiento paliativo en estadios avanzados de la enfermedad local o a distancia, cuando se agotaban otras opciones terapéuticas como la cirugía y la radioterapia (179). Los tumores de cabeza y cuello suelen diagnosticarse en estadios avanzados y, a pesar del tratamiento con cirugía y/o radioterapia, un gran número de pacientes presenta recidivas, fundamentalmente locorregionales y, con menos frecuencia, a distancia. En un intento de mejorar estos resultados, surgió la idea de añadir la quimioterapia a los esquemas de tratamiento.

Los fármacos quimioterápicos pueden clasificarse de distintas formas:

- Según la fase del ciclo celular en el que actúen: alquilantes, derivados del platino, inhibidores de las mitosis, antimetabolitos...
- Según la intención del tratamiento: quimioterapia paliativa, adyuvante, concomitante o de inducción/neoadyuvante.
- Según la pauta de administración: monoterapia, poliquimioterapia, en bolus, infusión continua, quimioterapia metronómica...

Durante dos décadas los fármacos más utilizados fueron la asociación de cisplatino y 5-fluoracilo (5-FU) (272). El cisplatino posee una toxicidad elevada y el 5-FU precisa de administración mediante perfusión continua durante 4-5 días debido a que sólo actúa durante la fase S del ciclo celular, por lo que precisa de ese tiempo para que muchas de las células neoplásicas pasen por esa fase. Durante las siguientes décadas se desarrollaron fármacos menos tóxicos, fármacos que actuaban en otras fases de la enfermedad (adyuvancia, neoadyuvancia) y se asoció la quimioterapia con la radioterapia (concomitancia). Posteriormente se añadieron los taxanos y el cetuximab, aumentando la eficacia de la quimioterapia.

A continuación hablaremos un poco de cada uno de los tipos de quimioterapia, según la fase de la enfermedad en la que se aplique:

1- QUIMIOTERAPIA PALIATIVA:

Su finalidad es reducir los síntomas de progresión tumoral y prolongar la supervivencia. En los últimos años, este tipo de quimioterapia ha sufrido un gran avance, debido a la aparición de la quimioterapia metronómica, que administra los fármacos quimioterápicos a dosis más bajas pero de forma continuada, consiguiendo una mejor tolerancia y permitiendo prolongar el tiempo de tratamiento. El fármaco más utilizado con este esquema es el paclitaxel semanal (80 mg/m² iv), que presentó en el estudio de Grau un 43% de respuestas, con una mediana de duración de 8,5 meses, en pacientes resistentes a platino; las respuestas se dieron en pacientes tanto con recidiva local como con enfermedad a distancia (273). Hitt encontró mejores tasas de respuesta asociando cetuximab semanal al paclitaxel (274).

Hoy en día, la asociación de quimioterapia con cetuximab se considera la pauta de tratamiento estándar en el cáncer de cabeza y cuello avanzado.

2- QUIMIOTERAPIA ADYUVANTE

El concepto de quimioterapia adyuvante aparece porque el cáncer de cabeza y cuello localmente avanzado presentaba una tasa de recidiva (locorregional o a distancia) de entre el 40% y el 50% a pesar del tratamiento con cirugía y radioterapia adyuvante. En un estudio de Bernier en fase III con estadios avanzados (III y IV), comparando radioterapia adyuvante con asociación de radioterapia y cisplatino adyuvantes, la supervivencia a los 5 años fue significativamente mayor en el grupo de quimiorradioterapia adyuvante (53% vs 40%), fundamentalmente por disminución de las recidivas locales o locorregionales (275). Desde principios del siglo XXI, el tratamiento de adyuvancia de los carcinomas de cabeza y cuello con alto riesgo de recidiva consiste en radioterapia y 3 dosis de cisplatino (179).

3- QUIMIOTERAPIA CONCOMITANTE

A finales del siglo XX ya se sabía que los pacientes que respondían bien a la quimioterapia respondían también a la radioterapia, lo que hacía suponer que sus efectos podrían ser sinérgicos. En el 2003 Forastiere publicó un estudio en pacientes con tratamiento conservador de cáncer de laringe, comparando radioterapia sola, radioterapia concomitante con quimioterapia (cisplatino en los días 1, 22 y 43) y quimioterapia de inducción con cisplatino y 5-fluoracilo seguidos de RT sola. La supervivencia libre de laringectomía a los dos años fue significativamente mayor en el grupo de radioterapia y quimioterapia concomitantes (80%). La radioterapia sola consiguió un 70% y la quimioterapia de inducción seguida de radioterapia (RT), un 75% (7). A partir de entonces la RT concomitante con cisplatino pasó a ser el tratamiento de elección para la preservación de órgano y tumores irresecables. Sin embargo, la asociación de radioterapia y cisplatino conlleva una toxicidad aguda y crónica importante, que puede influir en la supervivencia dado que puede provocar retrasos e interrupciones de las sesiones de radioterapia, dosis subóptimas de quimioterapia, aumento del tiempo total de tratamiento...). Esto llevó a la búsqueda de otros esquemas de tratamiento mejor tolerados.

Bonner demostró que la asociación de radioterapia y cetuximab en estadios avanzados de cáncer de cabeza y cuello mejoraba significativamente tanto el control local como las supervivencias global y libre de enfermedad, permitiendo el cumplimiento total del tratamiento en el 90% de los pacientes y equiparando los resultados a los obtenidos con radioterapia y quimioterapia concomitantes (276). Este estudio abre una nueva vía de investigación en el tratamiento del cáncer de cabeza y cuello.

Cetuximab ha demostrado un efecto aditivo al de la radioterapia y también al de la quimioterapia, lo que ha llevado a que distintos estudios en fase II investigasen su utilidad junto a quimioterapia y radioterapia concurrentes, consiguiendo resultados prometedores (277, 278). Están en marcha estudios en fase III que comparan radioterapia y cetuximab con radioterapia y quimioterapia concurrentes.

Cuando utilizamos quimioterapia de inducción, la toxicidad asociada a la quimioterapia puede comprometer la administración óptima de la quimioterapia y radioterapia concurrentes, sobre todo cuando utilizamos cisplatino en la inducción. En los últimos años han surgido esquemas alternativos, que todavía deben ser evaluados. El más interesante por su eficacia y perfil de toxicidad es la asociación de radioterapia y cetuximab tras quimioterapia de inducción. Lefebvre, en un estudio fase II, compara los resultados de quimioterapia con cisplatino y radioterapia concurrentes y radioterapia asociada a cetuximab, tras inducción con TPF en el tratamiento conservador de laringe, encontrando eficacias similares, con mejor tolerancia en el brazo de cetuximab (279).

Cetuximab es un fármaco con recorrido en el tratamiento del cáncer de cabeza y cuello avanzado. Su uso está avalado en estadios avanzados junto con radioterapia, con resultados similares a los obtenidos con quimioterapia y radioterapia concurrentes. Están todavía pendientes de ratificar sus resultados tras quimioterapia de inducción, en VPH+, asociado a quimiorradioterapia concurrente radical y tras cirugía (183).

4- QUIMIOTERAPIA DE INDUCCIÓN

La quimioterapia de inducción en el cáncer de cabeza y cuello continúa siendo un tema controvertido.

Este tipo de quimioterapia presenta aspectos clínicos, biológicos y relacionados con el diseño del tratamiento que debemos tener en cuenta:

- La quimioterapia sola no es una opción curativa. Siempre debe ir seguida de un tratamiento radical (con radioterapia o cirugía) (280).
- La quimioterapia de inducción provoca una toxicidad no desdeñable y un 3,7% de muertes tóxicas (281).
- La quimioterapia de inducción no permite definir áreas de irradiación más pequeñas, ya que las zonas que antes de la quimioterapia de inducción presentaban enfermedad pueden contener enfermedad subclínica tras la inducción, no detectable por la exploración clínica ni las técnicas de imagen. Se deben de radiar todos los tejidos afectados por la enfermedad antes de la quimioterapia de inducción.

- La quimioterapia de inducción, en el contexto de la preservación de órgano, tiene la capacidad de predecir la respuesta a la radioterapia.
- El volumen tumoral previo a la radioterapia representa un factor determinante en el control local. Tras una respuesta completa con la quimioterapia de inducción las posibilidades de control local aumentarían tras el tratamiento con radioterapia.
- La inducción basada en taxanos (282, 283) aporta novedades interesantes en el tratamiento tanto de los tumores irresecables como en el contexto de la preservación de órgano (183):
 - o Aumenta el control local.
 - o Permite mejores dosimetrías en tumores de gran tamaño, dado que el cambio en el volumen tumoral será mínimo y el volumen tumoral residual será menor.
 - o Tras la quimioterapia de inducción se debe valorar una radioterapia basada en fraccionamientos alterados, a ser posible asociada a fármacos contra nuevas dianas terapéuticas.

Uno de los principales estudios en este campo sería el de Hitt, que compara quimioterapia de inducción seguida de quimiorradioterapia concomitantes con quimiorradioterapia concomitantes sin quimioterapia de inducción, en tumores inoperables. Encuentra que la tasa de respuestas con quimioterapia de inducción casi duplica a la quimiorradioterapia sola, aunque las muertes por aplasia producidas al inicio del estudio, cuando no se añadían estimulantes medulares, ha impedido demostrar un aumento en la supervivencia (284).

Otros dos estudios demuestran que la quimioterapia de inducción con cisplatino, 5FU y docetaxel obtiene mejores resultados en tumores inoperables que la asociación de cisplatino y 5FU (282, 283).

La inducción con docetaxel-cisplatino-5FU (TPF) estaría indicada por tanto siempre con factores estimulantes de colonias y antibióticos en pacientes con buen estado general y tumores extensos inoperables o en casos de preservación de órgano en los que se busca un tratamiento radical (179).

A pesar de los avances, todavía quedan temas que resolver en cuanto a la quimioterapia de inducción, por ejemplo en lo referente a de cuántos ciclos constaría el esquema ideal, con qué pruebas valorar la respuesta o si asociar fármacos anti EGFR mejoraría los resultados.

La última revisión de la Cochrane del 2011 sobre la quimioterapia en el cáncer de cavidad oral y orofaringe sacó las siguientes conclusiones (271):

- La quimioterapia de inducción no se asocia con un aumento significativo de la supervivencia global en comparación con el tratamiento locorregional solo.
- La quimioterapia adyuvante tras la cirugía mejora la supervivencia global comparada con cirugía asociada sólo a radioterapia, y existe un beneficio adicional de la quimioterapia y radioterapia concomitantes como adyuvancia en comparación con la radioterapia y quimioterapia secuenciales.
- La quimioterapia y radioterapia concomitantes se asocia con una mejoría en la supervi-

vencia global en comparación con radioterapia aislada en pacientes con tumores irresecables.

- La asociación de docetaxel a la combinación de 5-fluoracilo y cisplatino puede asociarse con una disminución de la mortalidad.
- La quimiorradioterapia concomitante disminuye la mortalidad en comparación con el mismo régimen de quimioterapia administrado previamente a la radioterapia.

2.2 ONCOGÉN PIK3CA

La familia de las fosfatidilinositol 3-quinazas (PI3Ks) constituye un grupo de quinazas lipídicas capaces de fosforilar el grupo hidroxilo de la posición 3' del anillo inositol de las moléculas llamadas fosfatidilinositoles. Esto genera una cadena de segundos mensajeros que promueve una extraordinaria diversidad de funciones celulares, incluyendo el crecimiento celular, proliferación, movilidad, supervivencia celular y tráfico intracelular (285-290).

Existen tres clases de PI3Ks, cada una con sus funciones específicas y distintas estructuras, sustratos preferentes y mecanismos de activación y distribución tisular (286, 290-293). Las más importantes en cuanto al crecimiento celular y la tumorigénesis son las pertenecientes a la clase IA (294). Las distintas isoformas de PI3Ks muestran una distribución tisular específica. PIK3CA y PIK3CB se pueden encontrar en cualquier tejido (295-297). PIK3CD y PIK3CG se expresan predominantemente en leucocitos (298). Además, presentan funciones específicas. Por ejemplo, p110 α regula la señalización dependiente de insulina (299). p110 β participa en la activación plaquetaria (300); p110 δ regula la activación de células B y T (301)...

Las PI3K clase IA son heterodímeros formados por una subunidad reguladora (p85 α , p55 α , p50 α , p85 β o p55 γ) y una subunidad catalítica (p110 α , expresada por el gen PIK3CA; p110 β , expresada por el gen PIK3CB; p110 δ , expresada por el gen PIK3CD; o p110 γ , expresada por el gen PIK3CG). Las tres primeras subunidades reguladoras son isoformas del mismo gen PIK3R1, mientras que las otras dos subunidades reguladoras son expresadas por otros genes (PIK3R2 y PIK3R3) (302).

p110 α , la subunidad catalítica de PI3K clase IA, contiene un dominio N-terminal para ligar p85 (p85BD), un dominio para ligar Ras (RBD), un dominio proteína-quinasa-C homólogo-2 (C2), un dominio helicoidal y un dominio C-terminal quinasa (303).

PIK3CA, que codifica la subunidad catalítica p110 α de las PI3K de clase IA, es uno de los genes más frecuentemente mutados y amplificados en los cánceres humanos (304, 305). Es un gen de 34 kb, localizado en el cromosoma 3q26.3 y formado por 20 exones que codifican 1068 aminoácidos que conforman una proteína de 124 kDa.

En células inactivas, la subunidad reguladora p85 mantiene a la subunidad catalítica p110 α en un estado de baja actividad. Bajo la estimulación del factor de crecimiento, los receptores tirosín-quinasa (RTKs) se autofosforilan, creando sitios de unión para proteínas que contienen un dominio SH2 (Src homology 2); el dominio SH2 de la subunidad p85 se acopla a una tirosina fosforilada de un receptor tirosín-quinasa. Esta unión elimina la inhibición de la subunidad

p110 α y media su reclutamiento en la membrana plasmática (286). La activación de p110 α lleva a la producción de fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP3), que recluta proteínas adaptadoras y efectoras en la membrana celular, como por ejemplo la proteína-quinasa B (PKB), también conocida como Akt (306). Una vez en la membrana, PKB/Akt es activada por PDK1 y el complejo mTORC2, que fosforilan sus residuos Thr308 y Ser403, respectivamente. Al activarse, PKB/Akt fosforila y activa proteínas diana implicadas en distintas funciones celulares, como la progresión del ciclo celular, supervivencia celular, metabolismo, transcripción de RNA, motilidad celular... (307, 308). PIP3 es desfosforilado por la fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato 3-fosfatasa (PTEN), que lo transforma en fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP2). Por lo tanto, PTEN funciona como un gen supresor que regula negativamente la señalización PI3K (309) y se encuentra alterado en distintos tipos de tumores, lo que conlleva una activación permanente de la vía de señalización PI3K (310, 311).

Recordemos la definición de oncogenes y genes supresores de tumores:

- Un oncogén es un gen anormal o activado que procede de la mutación de un alelo de un gen normal llamado protooncogén (312). Son los responsables de la transformación de una célula normal en una célula maligna, que desarrollará un determinado tipo de cáncer. En el hombre se han identificado y secuenciado más de 60 oncogenes.
- Un gen supresor tumoral es un gen que reduce la probabilidad de que una célula se transforme en cancerígena (312). Los genes supresores de tumores se encuentran en las células normales y generalmente inhiben la proliferación celular excesiva. Una mutación o una delección de un gen supresor tumoral aumentará la probabilidad de que se produzca un tumor, por tanto. En las células normales, las proteínas codificadas por los genes supresores de tumores detienen la progresión del ciclo celular en respuesta a un daño en el ADN o a señales de supresión del crecimiento provenientes del medio extracelular. Cuando los genes supresores de tumores están mutados o son inactivos, las células no pueden responder normalmente a los puntos de control del ciclo celular, o son incapaces de realizar muerte celular programada si el daño del ADN es demasiado importante. Esto conduce a un incremento en las mutaciones y a la incapacidad de la célula de dejar el ciclo celular cuando debería convertirse en quiescente.

La vía de señalización de PI3K es única en el sentido de que todos los principales elementos de la misma han podido encontrarse amplificados o mutados en un gran número de cánceres. Las alteraciones genéticas más conocidas son la pérdida de PTEN, la amplificación de la región genómica que contiene Akt, la amplificación de RTK y mutaciones activadoras de PI3K, que provocan una regulación al alza de la misma (289).

- o RTKs: activan a PI3K directamente o a través de proteínas adaptadoras. Por tanto, la actividad de PI3K está muy influida por las interacciones entre receptor y factor de crecimiento. Tanto es así, que la mayor parte de PI3K permanecen inactivas en el citoplasma, sin interaccionar con sus sustratos en la membrana plasmática, y sólo una pequeña parte de las PI3K serán activadas por la estimulación del factor de crecimiento. De esta forma, pequeños cambios en la actividad del receptor pueden llevar a que se multiplique la actividad de PI3K.
- o EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico): es un activador de PI3K frecuentemente alterado en el cáncer.

- o PTEN: es un gen supresor que puede perderse o mutar en cánceres heredables o espontáneos. La pérdida monoalélica de PTEN contribuye al crecimiento tumoral en el contexto de otras mutaciones somáticas; los niveles de PTEN se correlacionan con la severidad de la enfermedad (313).
- o AKT: amplificaciones en distintas isoformas de AKT han sido publicadas en cánceres de cabeza y cuello, mama, colon, páncreas u ovario (314, 315).
- o p110 α : PIK3CA, el gen que codifica para la subunidad catalítica de PI3K, p110 α , se ha encontrado frecuentemente mutado en cáncer de mama (27%), colorrectal (14%), tracto urinario (17%) y ovario (8%) (316). Estas mutaciones se encuentran agrupadas en dos regiones del gen, que codifican los dominios quinasa y helicoidal. Los mecanismos moleculares por los que estas mutaciones activan p110 α todavía están empezando a dilucidarse (317). Se trata de mutaciones puntuales sin sentido que confieren una actividad quinasa de forma constitutiva (289). PIK3CA también se encuentra amplificado en cánceres de cabeza y cuello, carcinoma de células escamosas de pulmón o cánceres gástrico y cervical (314, 318). El primer estudio acerca de la mutación del gen PIK3CA en el cáncer humano fue publicado por Samuels y colaboradores (289). Después de éste, se publicaron numerosos artículos reflejando mutaciones somáticas del gen PIK3CA en distintos tipos de cáncer: colon, ovario, mama, cerebro, hígado, estómago, pulmón... La mayor parte de estas mutaciones se localizan en tres locus: E542 y E545 en el dominio helicoidal, en el exón 9; y H1047 en el dominio quinasa, en el exón 20. Estas mutaciones aumentan la actividad PI3K del encima *in vitro* (289, 319). La expresión de estos mutantes de p110 α confiere a las células la activación de AKT en ausencia de la estimulación del factor de crecimiento (318, 320). Además, estos mutantes son capaces de transformar fibroblastos y células epiteliales de mamíferos (319, 320) y provocar el desarrollo de tumores en genoinjertos de ratón (321). Esta oncogenicidad de las mutaciones de PIK3CA *in vitro* e *in vivo* sugiere un importante papel de estas proteínas mutadas en los cánceres humanos, por lo que cabría deducir que esta quinasa podría constituir una diana ideal para desarrollar moléculas inhibidores que actuarían como drogas antitumorales. Si estas moléculas inhibidoras pudiesen discernir entre la forma mutada y la no mutada de PIK3CA, esto minimizaría los posibles efectos secundarios originados por la interferencia con la proteína no mutada.

Numerosos artículos demuestran la presencia de amplificaciones o mutaciones del gen PIK3CA en distintos cánceres humanos (289, 318, 322). En cambio, comparado con p110 α y p85 α /p55 α /p50 α , la frecuencia de mutaciones en otras subunidades catalíticas o reguladoras es extremadamente baja o nula (289, 323).

2.2.1 PIK3CA en los diferentes cánceres humanos

PIK3CA representa uno de los genes más frecuentemente mutados en el cáncer humano. Se han descrito frecuencias altas de mutación del mismo en el cáncer colorrectal (289), mama (287), e hígado (288), y más bajas en otros tipos de cánceres, como ovario (289, 324, 325), pulmón (288, 289), cáncer gástrico (104, 288, 289, 326) y cerebral (288, 289, 327-334). En tiroides, por ejemplo, la amplificación de PIK3CA es más frecuente que su mutación, sobre todo en cáncer papilar y folicular (335).

1. CÁNCER COLORRECTAL:

La mutación de PIK3CA en el cáncer colorrectal ha sido descrita en un 10-20% de los casos. Estas frecuencias pueden variar según la técnica utilizada para detectar la mutación. Las mutaciones se encuentran más frecuentemente en el exón 9, con una razón de 3:1 a 5:1 (336, 337), observándose un aumento gradual desde el colon distal al proximal, desde un 8-9% a un 21-25% (337, 338). Además, en la mayoría de estudios publicados, se encontró una relación estadísticamente significativa entre la mutación de PIK3CA y la mutación de KRAS y la pérdida de expresión de MGMT (06-metilguanina-ADN metil-transferasa) (337-339). Ogino y colaboradores, en un estudio que incluía 450 pacientes con cáncer de colon resecable, encontraron una frecuencia de mutación de un 18%, asociándose significativamente la mutación de PIK3CA con la mutación de KRAS y la no expresión de p53. No encontraron ninguna asociación con los parámetros clínicos analizados. Aunque no alcanzaron una significación estadística, sí encontraron un aumento en la mortalidad específica pero no en la mortalidad global, ni en el análisis univariante ni en el multivariante. Además, este empeoramiento del pronóstico podría estar potencialmente limitado a los tumores en los que no se producían mutaciones en KRAS. La supervivencia global tampoco se vio influenciada por la mutación de PIK3CA (340). Pocos trabajos han relacionado la mutación de PIK3CA en el cáncer de colon con la supervivencia del mismo. Kato y colaboradores encontraron que la mutación de PIK3CA predecía una supervivencia más corta (341). Barault y colaboradores concluyeron que la presencia de al menos una mutación en PIK3CA, BRAF o KRAS predecía una peor supervivencia en pacientes con cáncer de colon, aunque no describieron el efecto de la mutación de PIK3CA en la supervivencia, independientemente de otros parámetros clínicos y moleculares (342). En otros estudios en los que se tuvieron en cuenta otros marcadores, no se confirmó esta relación (336, 343).

2. CÁNCER DE MAMA:

En el cáncer de mama, los distintos estudios publicados encuentran un porcentaje de mutaciones de PIK3CA de entre 18 y 45% (287, 289, 322, 325, 344, 345). En la base de datos COSMIC, que recoge 5838 muestras de cáncer de mama, el 26% de las mismas presentan una mutación en PIK3CA (316). En líneas celulares de cáncer de mama, la presencia de mutaciones supera el 50% (346). Además, la mutación de PIK3CA induce la formación de tumores en ratones transgénicos (320, 347). Dumont y colaboradores realizaron una revisión sistemática sobre el impacto de la mutación de PIK3CA en la supervivencia en el cáncer de mama (348). Incluyeron 12 estudios, sumando un total de 2587 casos de cáncer de mama. La mayor parte de las mutaciones fueron E542K, E545K y H1047R. Concluyeron que los resultados eran mejores en pacientes con una mutación en PIK3CA, aunque esta mejoría en el pronóstico podría sólo afectar a pacientes con mutaciones en el dominio quinasa y a mujeres postmenopáusicas con cánceres de mama receptor estrogénico (ER) positivos. Cuatro estudios, que incluían un total de 1211 casos, encontraron que la mutación de PIK3CA se asociaba con una mayor supervivencia, tanto libre de enfermedad como global (349-352). Además, en estos 4 estudios, el análisis multivariante confirmó la asociación de la mutación con un mejor pronóstico, independientemente de otros factores. Seis estudios no encontraron una relación estadísticamente significativa entre la mutación de PIK3CA y la supervivencia (353-358), aunque tres de ellos reflejaron una tendencia favorable que relacionaba la mutación con mejores resultados clínicos (353, 354, 357), que no llegó a ser estadísticamente significativa, posiblemente por un tamaño muestral

insuficiente. Uno de los estudios, a pesar de no encontrar diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la supervivencia en pacientes con mutación, sí encontró que determinadas mutaciones en el dominio quinasa estaban asociadas independientemente con una supervivencia global más corta (358).

Dos estudios encontraron asociación de la mutación con una peor supervivencia global (359, 360), pero estos estudios presentaban limitaciones importantes en su validez.

Combinando los distintos datos, se encontró una fuerte asociación entre las mutaciones de PIK3CA y la positividad para ER y una asociación entre el estadio tumoral y la no presencia de mutación PIK3CA. Jensen y colaboradores, en un análisis de regresión múltiple que incluía el estado de PIK3CA, afectación linfática, grado, tamaño tumoral, ER, HER2 y tratamiento adyuvante, encontraron que el único factor independiente que alcanzó una relación estadísticamente significativa con el tiempo de recurrencia fue la positividad de ER ($p < 0.005$) (345).

Saal, en su estudio con 133 tumores primarios de mama, encontraron un 26% de mutaciones de PIK3CA, en todos los estadios, además de una correlación estadísticamente significativa entre la mutación de PIK3CA y las metástasis linfáticas, la expresión de ER, PR (receptor de progesterona) y erbB2 y la ausencia de mutación de PTEN; no encontraron relaciones significativas entre la mutación de PIK3CA y la supervivencia libre de enfermedad a distancia, la supervivencia libre de recurrencia o la supervivencia global (356).

Se ha dicho que las mutaciones en PIK3CA aparecen tarde durante el proceso de tumorigénesis, durante un proceso de acumulación de defectos genéticos que finalmente provocan la transformación de lesiones precursoras en carcinomas invasivos (289, 361). Sin embargo, distintos estudios describen la presencia de mutaciones en lesiones preinvasivas (362, 363). Jensen, en su estudio en el que compara la presencia de mutaciones de PIK3CA en 104 tumores primarios de mama y 104 metástasis asincrónicas de los mismos, describe que la frecuencia de mutaciones tiende a aumentar en las metástasis; esto podría deberse a la presencia de heterogeneidad en el tumor primario, con pequeños subclones mutados no detectables; además, en su estudio encuentra algún caso en el que el tumor primario presentaba mutación, pero no así la metástasis; esto podría deberse a que la ventaja selectiva proporcionada por la mutación de PIK3CA podría ser sustituida por otros subclones no mutados que contuviesen otra alteración con un potencial más agresivo, resultando en metástasis sin la mutación de PIK3CA; concluye por tanto que las mutaciones en PIK3CA son un evento temprano, que existe heterogeneidad intratumoral y que podrían producirse eventos adicionales durante la progresión de la enfermedad.

Varios estudios han descrito la concordancia en la existencia de mutaciones de PIK3CA entre el carcinoma ductal in situ y las lesiones invasivas del mismo (362, 363).

3. CÁNCER DE VEJIGA:

La activación de la vía de señalización PI3K se puede producir por distintos mecanismos dependiendo de qué tejido se trate. Por ejemplo, PTEN en determinados tipos de cáncer es inactivado por mutación, mientras que en otros el mecanismo fundamental es la

deleción (364) . Del mismo modo, en algunos tumores hay determinados eventos que son mutuamente excluyentes (304). Distintos estudios han implicado las alteraciones en la vía PI3K con el carcinoma urotelial de todos los grados y estadios (365-368). La mutación de PIK3CA ha sido encontrada con una frecuencia considerable en el carcinoma urotelial. Platt y colaboradores, por ejemplo, encontraron una frecuencia de 27% (367). Lopez-Knowles y colaboradores encontraron una frecuencia más baja en su serie, además de una relación significativa con grados y estadios bajos (368). La diferencia en la frecuencia podría deberse a distintas sensibilidades de los test usados para detectar la mutación, por lo que se necesitarían más estudios para determinar exactamente la frecuencia real de la mutación. Por otro lado, el espectro de mutaciones de PIK3CA en el carcinoma urotelial difiere bastante de lo encontrado en otros tipos de cáncer. Las mutaciones E542K y E545K son más comunes, mientras que la mutación H1047R (la más frecuente en algunos tipos de cáncer) es menos común (316). Hasta el momento, se han encontrado hasta 8 mutaciones distintas (367). Los motivos de esta presión selectiva por las mutaciones del dominio helicoidal todavía no se han dilucidado, pero estudios recientes han revelado que los dos dominios quinasa y helicoidal poseen distintos mecanismos de activación (369). En distintos ensayos, se demostró que H1047R era dependiente de la unión de p85 e independiente de RAS, mientras que las mutaciones E542K E545K eran dependientes de RAS pero no de p85. Por tanto podríamos pensar que podría haber cooperación entre las mutaciones del dominio helicoidal y otros eventos que activen RAS, como por ejemplo mutaciones en el propio RAS, sobreexpresión de EGFR o mutación de FGFR3 (receptor 3 del factor de crecimiento fibroblástico) (370).

Además de mutaciones, en algunos tumores se encontró amplificación de PIK3CA(371) .

Si consideramos la vía de PI3K como una vía de señalización lineal, podríamos pensar que las alteraciones en distintos elementos de la vía tendrían consecuencias redundantes y serían por tanto mutuamente excluyentes. Esto ocurre en algunos cánceres. Por ejemplo, en el cáncer de endometrio PIK3CA y RAS son mutaciones mutuamente excluyentes. Sin embargo, coexisten en el cáncer colorrectal, al igual que en el cáncer de mama coexisten la amplificación de HER2 con la mutación de PIK3CA y la pérdida de PTEN (304). En el carcinoma urotelial, Platt demuestra que las mutaciones en tres de los principales genes de esta vía (PTEN, PIK3CA y TSC1) no son mutuamente excluyentes, lo que implica que tendrían efectos aditivos o sinérgicos (367).

En cuanto a la relación con los parámetros clínicos o de supervivencia, Platt y colaboradores encontraron una relación estadísticamente significativa entre la mutación de PIK3CA y el grado tumoral, pero no con el estado (367).

4. CÁNCER DE CÉRVIX:

En el cáncer de cuello uterino también se han identificado mutaciones en el gen PIK3CA, con prevalencias de entre el 13% y el 36% (372-374), lo que sugiere que este gen podría desempeñar un importante papel en el desarrollo del mismo. En la base de datos del catálogo de mutaciones somáticas en el cáncer (316), la frecuencia de esta mutación es de un 11% en adenocarcinomas de cérvix y de un 14% en carcinomas escamosos (375). Además, distintos estudios preclínicos indican que esta mutación podría ser un predictor

positivo de la respuesta al tratamiento con inhibidores del eje PI3K/AKT/mTOR (373, 376, 377). McIntyre y colaboradores, en un estudio que incluía 82 muestras de cánceres cervicales, encontraron una frecuencia de mutación de PIK3CA del 23%, 79% de las mismas localizadas en el exón 9 (378). Además, encontraron una fuerte asociación entre la mutación y una peor supervivencia global (aunque no en la supervivencia libre de progresión) en estadios FIGO IB y II, en cánceres cervicales tratados con quimiorradioterapia radical; esto podría sugerir que estas mutaciones en PIK3CA podrían conferir un fenotipo resistente a quimiorradioterapia. Shwarz y colaboradores ya habían demostrado que los cambios genéticos en la vía PI3K/AKT/mTOR estaban asociados con una respuesta incompleta a la quimiorradioterapia en el cáncer cervical (379). La presencia de mutación de PIK3CA en este estudio no se correlacionó con ningún parámetro clínico, salvo con la edad del paciente, siendo la media de edad de los pacientes con mutación 10 años mayor que la de los pacientes sin mutación. Cui y colaboradores también publicaron una correlación similar (380). Rochefordiere y colaboradores, en un estudio que incluía 78 pacientes con cáncer de cérvix estadios IB2-IIIB y en el que establecía dos brazos de tratamiento (quimiorradioterapia con cisplatino exclusivamente y quimiorradioterapia conjuntamente con cetuximab semanal), vieron que la frecuencia de mutaciones en PIK3CA era de un 22%, y que ningún tumor con mutación de este gen presentó una respuesta completa, además de presentar una tendencia hacia una peor supervivencia libre de enfermedad al ser tratados con cetuximab en comparación con el tratamiento convencional sin cetuximab ($p=0.06$) (381). Este empeoramiento en la respuesta al tratamiento concuerda con lo publicado por Schwarz, que encontró una correlación entre las alteraciones en la vía de señalización PI3K/Akt con un PET-TAC positivo postratamiento en pacientes con cáncer de cérvix (379). Aunque no se conoce el motivo de esta relación, Perrone obtuvo resultados similares en cáncer colorrectal metastásico (382), encontrando una relación estadísticamente significativa entre las mutaciones de KRAS y desregulaciones de PIK3CA/PTEN y la resistencia a cetuximab. Tornesello y colaboradores encontraron una frecuencia de mutaciones del 16% en adenocarcinomas de cérvix y del 5% en carcinoma de células escamosas. Además, estudiaron también la mutación en lesiones preinvasivas (CIN3), no encontrando ninguna mutación (383). Cui investigó también las mutaciones en lesiones CIN3, encontrando un 8.15% de mutaciones en carcinomas cervicales pero ninguna en lesiones preinvasivas, aunque la diferencia no llegó a ser estadísticamente significativa ($p=0.13$) (380). Esto nos sugiere que las alteraciones de este protooncogén constituirían eventos tardíos durante el proceso de carcinogénesis. Las ganancias del locus 3q26, dentro del cual se encuentra PIK3CA, han sido asociadas en distintos estudios con la progresión de lesiones precancerosas de alto grado a cáncer, detectándose en menor frecuencia en estadios tempranos del proceso de carcinogénesis y aumentando con la severidad de las lesiones (384-388). Cui tampoco encontró diferencias significativas en cuanto a la supervivencia entre pacientes con mutación y sin ella (380).

Otros estudios han encontrado frecuencias mucho más altas para la mutación de PIK3CA, de hasta un 37,5% en adenocarcinomas y un 25% en carcinomas escamosos (389, 390), utilizando análisis basados en la espectrometría de masas, lo que nos sugiere o bien que ésta podría ser una técnica más sensible que la de secuenciación de Sanger, o bien que el porcentaje de mutaciones varía mucho de unas poblaciones a otras.

A diferencia de lo que ocurre con otros cánceres como el de colon y el de mama, en los que la amplificación de PIK3CA no es un fenómeno frecuente, en el cáncer cervical sí es

común un nivel bajo de amplificación de PIK3CA, con frecuencias de hasta un 70% (391, 392).

En cuanto a la relación con el VPH, Cui y colaboradores no encontraron una asociación significativa entre la mutación de PIK3CA y la infección por el VPH, lo que sugiere que ambos pueden actuar como factores oncogénicos independientes (380). Sin embargo, Henken y colaboradores realizaron un estudio en el que concluyeron que la activación de la vía PI3K/PKB/AKT, en parte resultante del aumento de expresión de PIK3CA, está implicada en el proceso de transformación in vitro mediada por el VPH, resultando esencial en los procesos de proliferación, crecimiento celular, migración, etc, requeridos para mantener esta transformación, además de actuar como regulador crítico en el crecimiento y diferenciación del epitelio en cultivos de células inmortales transfectadas por el VPH (393).

5. ENDOMETRIO:

En el cáncer de endometrio se ha identificado una frecuencia alta de mutaciones de PIK3CA, desde un 10 a un 40% (372, 394-398). Estas mutaciones, en el carcinoma de endometrio, se localizan predominantemente en los exones 9 y 20 (394-396, 399). En el 2005, Bader y colaboradores revisaron la frecuencia y distribución de las mutaciones de PIK3CA en cánceres de colon, mama, hígado, cerebro, estómago, pulmón y ovario, encontrando que el 91% de las mutaciones ocurrían en estos dos exones (286). Sin embargo, distintos estudios encontraron un porcentaje alto de mutaciones en el exón 1 en carcinomas de endometrio (361, 400). A raíz de estas publicaciones, Rudd, en su serie de 108 carcinomas de endometrio, publica que la mitad de las mutaciones de PIK3CA en sus muestras se encontraron en los exones 1-7 y la mitad en los exones 9 y 20. Casi todas las mutaciones en los exones 1-7 se agrupaban en tres regiones específicas de p110 α : ABD, ABD-RBD ligando y el dominio C2; y el 62% codificaban para mutantes de p110 α , con una ganancia de función (398). La frecuencia de mutaciones en estos exones 1-7 en la serie de Rudd, resultó significativamente más alta que en otros tumores como el de colon (289), mama (325) o vesícula biliar (367). De haber secuenciado sólo los exones 9 y 20, la frecuencia de mutaciones de PIK3CA habría sido de un 24% en vez del 40% encontrado.

A diferencia de lo que ocurre con otros cánceres epiteliales como el de colon (289, 401) y mama (356, 402), en los que las mutaciones en PIK3CA están principalmente asociadas a tumores invasivos y de alto grado, la gran parte de los estudios en carcinoma de endometrio no encontraron una asociación entre la presencia de esta mutación y los parámetros pronósticos (372, 394, 396, 398). Catasus y colaboradores, en cambio, encontraron que no sólo las mutaciones de PIK3CA en el cáncer de endometrio están asociadas con un peor pronóstico, sino que su localización en el exón 9 o el exón 20 conlleva diferencias pronósticas (399). Catasus encontró un 29% de mutaciones de PIK3CA en su serie de 109 carcinomas de endometrio, la mayor parte (91%) perteneciendo a adenocarcinomas endometrioides. Además, encontró que los tumores con mutación de PIK3CA presentaban una frecuencia más alta de invasión linfovascular que los no mutados (28% vs 18%), aunque esta diferencia no alcanzó la significación estadística. El grado histológico varió significativamente entre las mutaciones en los exones 9 y 20: las mutaciones en el exón 9 fueron más frecuentes en el grado 1 y las mutaciones en el exón 20, en los grados 2 y 3. También, tanto la presencia como la distribución de las mutaciones, se correlacionó con el estadio: ninguno de los tumores estadio IA presentó mutaciones en PIK3CA; además, el 64% de las

mutaciones en el exón 9 presentaban una invasión de como mucho la mitad del espesor del miometrio, mientras que el 73% de las mutaciones en el exón 20 presentaban una invasión más profunda del miometrio (estadio IC) o afectación del cérvix (estadio II). No encontraron correlaciones entre la mutación y otros parámetros clínicos o patológicos.

Algunos estudios en cáncer colorrectal y mama han encontrado que las mutaciones de PIK3CA y PTEN son mutuamente exclusivas (356, 403). Sin embargo, en el cáncer de endometrio distintos estudios demuestran la coexistencia de mutaciones en PIK3CA y PTEN en porcentajes de entre el 15 y el 27% (394-396, 398, 399). Catasus, de hecho, encontró un porcentaje más alto de mutaciones de PIK3CA en cánceres de endometrio con PTEN mutado que en los que PTEN no estaba alterado (399).

Velasco y Ollikanen defienden que la mutación y la amplificación de PIK3CA son mutuamente exclusivas en el cáncer de endometrio (395, 397). Sin embargo, Miyake y colaboradores encontraron mutación de PIK3CA en el 25% de los tumores con amplificación del mismo (372).

6. CÁNCER GÁSTRICO:

En el cáncer gástrico también se han descrito mutaciones en el gen PIK3CA, con frecuencias que variaron desde un 4,3% a un 25% (104, 288, 289, 326, 404-406). Algunos estudios encuentran frecuencias mayores del 15% (289, 405). Otros, a pesar de encontrar frecuencias bajas de mutación, sí identifican un porcentaje muy alto de amplificación del gen (406-408). Está claro que la amplificación de PIK3CA puede aumentar la expresión y la actividad PI3-quinasa, llevando a una hiperactivación de la vía PI3K-Akt, lo que estaría asociado con una proliferación celular y apoptosis aberrante, ambas cosas ligadas directamente al proceso de tumorigénesis en muchos cánceres humanos (371, 392, 409) entre ellos el cáncer gástrico (410-412). La amplificación de PIK3CA ha sido documentada en distintos cánceres humanos, como el de ovario, cérvix, o pulmón (371, 392, 413, 414). Yang, por ejemplo, demostró que la amplificación de PIK3CA era un evento muy frecuente en el cáncer gástrico y que podría ser un mecanismo importante en la activación de la vía PI3K en el mismo. Definiendo amplificación como un número de copias mayor o igual que 4 del gen, Yang encontró un 67,3% de amplificaciones, frente a un 0% en tejido sano; el número de copias en las muestras de cáncer fue significativamente más alto que en tejido sano ($p < 0,001$). Además, encontró en su serie una asociación cercana entre la amplificación de PIK3CA y la metilación de RASSF1A o PAX6 concomitantes, y un riesgo aumentado de muerte relacionada con cáncer. La metilación de RASSF1A y amplificación de PIK3CA concomitantes mostró una relación positiva estadísticamente significativa con la edad. Y la metilación de PAX6 y amplificación de PIK3CA concomitantes mostró relación con la presencia de metástasis cervicales, aunque no llegó a la significación estadística. Por último, también encontraron una relación significativa entre la amplificación de PIK3CA y la metilación de RASSF1A o PAX6 concomitantes, con una peor supervivencia (408).

Shi y colaboradores, en su serie de 131 carcinomas gástricos, encontraron un porcentaje de mutaciones de PIK3CA del 7,1% y un 67% de amplificaciones (considerando amplificación cuando el número de copias era de al menos 4). No encontraron amplificación

en las muestras de tejido sano, siendo significativamente más alto el número de copias de PIK3CA en el cáncer gástrico que en el tejido normal ($p < 0,0001$). La amplificación mostró una relación cercana con los niveles aumentados de Akt fosforilado. La presencia de mutaciones presentó una asociación positiva con el grado de diferenciación tumoral, lo mismo que la presencia de amplificación. La amplificación de PIK3CA mostró una asociación positiva estadísticamente significativa con el riesgo aumentado de muerte por cáncer, que se mantuvo tras el análisis multivariante, siendo por tanto independiente de otros factores pronósticos como el estadio tumoral, el grado de diferenciación, la presencia de metástasis cervicales, etc. A pesar de que vieron que la mutación de PIK3CA no afectaba al pronóstico general, los pacientes con amplificación tuvieron un tiempo de supervivencia significativamente más corto, independientemente del estadio tumoral. Por último, también encontraron que la amplificación de PIK3CA y la delección de PTEN resultaron eventos mutuamente excluyentes en el cáncer gástrico (406). Esto mismo fue sugerido por Byun y colaboradores, que encontraron en su serie de cánceres gástricos un 36,4% de amplificaciones, la mayor parte en tumores sin alteraciones de PTEN. No encontraron ninguna amplificación en muestras de tejido sano. Además, como Shi, vieron que la amplificación de PIK3CA estaba fuertemente asociada con los niveles altos de AKT fosforilado. Buyn consideró como amplificación un número de copias mayor de 3.06 (408).

2.2.2 PIK3CA en el Carcinoma Epidermoide de Cabeza y Cuello

Desde hace algo más de diez años, empezaron a surgir distintos proyectos que buscaban secuenciar todo el genoma del carcinoma epidermoide de cabeza y cuello (CECC), como el “Head and Neck Genome Anatomy Project”, con el fin de identificar las alteraciones genéticas más frecuentes del mismo (415, 416). Estos estudios confirmaron que el CECC constituía una enfermedad muy heterogénea y que no existe una única alteración genética o disregulación de una vía de señalización que sea la única responsable de su desarrollo y progresión. Las tres principales vías de señalización implicadas en la patofisiología del CECC son: MAP-kinasa, JAK/STAT y PI3K (417, 418). Lui analizó el genoma de 151 CECC, resultando la vía de PI3K la más frecuentemente alterada, en un 30,5%, y PIK3CA el gen que muta con mayor frecuencia dentro de esta vía de señalización (419).

El primero en describir la mutación de PIK3CA en el CECC fue Qiu en el 2006 (420). En su serie de 30 pacientes con tumores primarios y 8 líneas celulares, encontró un 11% de mutaciones (12,5% en líneas celulares y 10% en tumores primarios); de todas las mutaciones, el 75% pertenecían a carcinomas epidermoides localizados en la faringe. No encontró ninguna correlación significativa entre la mutación de PIK3CA y el sexo o la edad de los pacientes.

Desde entonces, distintos estudios han encontrado porcentajes de mutación de PIK3CA de entre un 11% y un 33% en el CECC, convirtiéndolo en uno de los genes más frecuentemente mutados en esta enfermedad (415, 416, 419, 421, 422). Lui publicó un porcentaje de mutaciones de PIK3CA del 12,6% en su serie de 151 CECC primarios (419). Bride, en su serie de 64 pacientes con CECC encontró un 16% de mutaciones de PIK3CA, siendo las localizaciones con mayor frecuencia de mutación, la orofaringe (26%) y la nasosinusal (66%). Este fue el primer artículo en describir la mutación de PIK3CA en carcinomas epidermoides nasosinuales. Este grupo también buscó relaciones entre la mutación de PIK3A/AKT1 y otras variables clíni-

cas, en la cohorte de carcinomas de orofaringe. No encontraron relaciones entre la mutación y la supervivencia global, mortalidad específica o la progresión de la enfermedad. Respecto al hábito tabáquico, a pesar de que un 86% de los carcinomas con mutación tenían una historia positiva frente a un 50% de los no mutados, esta diferencia no alcanzó la significación estadística ($p=0.17$). Tampoco hubo asociaciones significativas entre la presencia de mutación de PIK3CA/AKT1 y la infección por VPH ($p=0.26$) o el consumo de alcohol ($p=1.00$). Murugan encuentra un 10,5% de mutaciones en tumores primarios en pacientes indios y un 11% en pacientes japoneses (422). Stransky describe una frecuencia de mutación de PIK3CA de un 12.5% en carcinomas epidermoides orofaríngeos (415). Agrawal encontró una frecuencia más baja, de un 1% (416). Qiu, que había descrito por primera vez la mutación de PIK3CA en el CECC, en el 2008 hizo un nuevo estudio con un nuevo método de secuenciación enriquecido (423); en su primer estudio había encontrado un 11% de mutaciones (420); con el nuevo método enriquecido, en una serie de 24 carcinomas faríngeos, este porcentaje alcanzó el 20.8%. Este nuevo método de secuenciación resulta especialmente útil a la hora de detectar mutaciones en muestras con cantidad de tejido tumoral limitada, como en el caso de biopsias diagnósticas. El método clásico de secuenciación sólo detectaría la mutación si el ADN mutante está presente en al menos un 10% de una población de células mutadas y no mutadas en el tejido tumoral (424, 425). El nuevo método, que en el estudio de Qiu demostró ser al menos 20 veces más sensible que el tradicional, sería por tanto muy valioso cuando esperamos un porcentaje de ADN mutado bajo. Qiu buscó además relaciones entre la mutación de PIK3CA y otras variables clínicas. No encontró asociación ni con el hábito tabáquico, ni con el consumo de alcohol, ni con el grado de diferenciación. Un dato interesante observado por Qiu es que dos de los pacientes con PIK3CA mutado no tenían ningún hábito tóxico, lo que podría sugerirnos que la mutación de PIK3CA podría ser una causa fundamental en pacientes con carcinomas de faringe y sin hábitos tóxicos.

Las mutaciones de PIK3CA en los cánceres humanos son somáticas, cáncer-específicas, heterocigóticas y principalmente mutaciones sin sentido (289). Más del 75% de las mutaciones de PIK3CA están agrupadas en los dominio helicoidal (exón 9) y quinasa (exón 20) (289). Las mutaciones de PIK3CA más frecuentes en el carcinoma epidermoide de cabeza y cuello son E542K, E545K y H1047R/L, que comprenden aproximadamente el 90% de las mutaciones detectadas (289, 319, 419, 426, 427). Este porcentaje es similar al encontrado en otros cánceres, como el de mama, cérvix o pulmón, pero difiere de otros como el de endometrio, el adenocarcinoma de pulmón, el glioblastoma multiforme o el carcinoma de próstata.

Murugan analizó los exones 9 y 20 del gen PIK3CA en 54 muestras (17 líneas celulares, 19 CECC primarios de pacientes indios y 18 CECC primarios de pacientes vietnamitas). Encontró un 29.4% de mutaciones en líneas celulares, un 10.5% en tumores indios y un 0% en tumores vietnamitas. Ya Kozaki había descrito una mayor frecuencia de mutaciones en las líneas celulares derivadas de CECC que en los carcinomas primarios (428). El estudio de Murugan fue el primero en demostrar la capacidad oncogénica de los mutantes de PIK3CA en el CECC. Todos los mutantes demostraron un aumento de la actividad PI3K (mayores niveles de PI(3)P), seguido de una mayor eficacia de clonado independiente de factores de crecimiento (colonias más grandes y en mayor número, cambios en la morfología (más grandes, menos aplanadas y más refráctiles)) y tasas de migración e invasión más altas que en los casos de PIK3CA no mutado (más de tres veces) (422). Ya anteriormente Samuels había sugerido que las mutaciones de PIK3CA E545K y H1047R eran mutaciones activadoras con ganancia de función tanto en proliferación celular como en invasión y metástasis (318). Las mismas mutaciones demostraron

ser oncogénicas en células epiteliales mamarias (320). Distintos estudios han demostrado la capacidad oncogénica de la mutación de PIK3CA tanto en cultivos celulares como en injertos tumorales (286) y que la actividad transformadora de los mutantes está relacionada con la actividad proteín-quinasa aumentada y con la activación de la vía de señalización de Akt (289, 318, 319, 429). La proteína p110alfa es capaz de activar Akt en ausencia de factores de crecimiento (286, 319, 429).

Lui vio que los tumores con una alteración en la vía PI3K tenían porcentajes más altos de mutaciones que los que no tenían esta vía alterada (2.3 veces más mutaciones, $p < 0.0001$) (419). Y esto para todas las localizaciones que estudió en su serie de CECC (cavidad oral, faringe y laringe). Estos datos sugieren que las mutaciones en la vía PI3K podrían facilitar la selección de células tumorales genéticamente inestables, con lo que irían acumulando mayor cantidad de alteraciones genéticas; y/o que los tumores con mutaciones en la vía PIK3CA poseen intrínsecamente un fenotipo “mutagénico” que los hace más propensos a mutar. Además, el 100% de estos tumores con varias mutaciones en la vía PI3K, correspondían a estadios IV. Por tanto, las alteraciones en la vía PI3K podrían contribuir a la progresión de CEC. Este hecho no se ha observado en ninguna otra localización. Por ejemplo, Cerami encontró que sólo uno de 25 carcinomas de mama, uno de 27 carcinomas de colon y ninguno de 35 carcinomas escamosos de pulmón con múltiples mutaciones en la vía PI3K, eran estadios IV (430). A pesar de esto, no se encontraron diferencias significativas entre el estadio avanzado y mutaciones individuales en la vía PIK3CA; ni entre el porcentaje de mutaciones en el estadio IV y los estadios I-III.

En cuanto a la relación entre la mutación de PIK3CA y las alteraciones en otros genes, en la literatura podemos encontrar los siguientes datos. Existen estudios contradictorios en cuanto a la presencia (431) o ausencia (432) de mutaciones de PTEN en el CECC. Algunos estudios describen que las mutaciones de PIK3CA sólo se producen en tumores no portadores de mutación de PTEN (334), mientras que en algunos casos de cánceres de mama las dos mutaciones coexisten (356), y en carcinomas de endometrio con una frecuencia alta (394). Otros estudios no encuentran ninguna mutación de PTEN en células que tienen PIK3CA mutado, sugiriendo que ambas mutaciones son mutuamente excluyentes (26, 408, 422). En el CECC, Murugan encontró que las mutaciones de PIK3CA y PTEN eran mutuamente excluyentes, aunque la mutación de PTEN es infrecuente en el CECC. También resultaron excluyentes en este estudio la mutación de PIK3CA y la amplificación de EGFR. Sin embargo, las mutaciones de PIK3CA y H-RAS sí coexistían (422), sugiriendo un posible efecto sinérgico en el desarrollo/progresión del CECC. Bride, en su serie de 64 con CECC, encontró que las mutaciones de PIK3CA, TP53, AKT1 y EGFR resultaban todas mutuamente excluyentes, salvo un paciente en el que coexistían dos mutaciones, en PIK3CA y en EFGR (433). Las alteraciones genéticas mutuamente excluyentes en la vía de señalización de PI3K han sido relacionadas con la aparición y progresión inicial del CECC, mientras que la combinación de alteraciones en esta vía se relaciona con la progresión del mismo (419, 434).

Además de la mutación, en el CECC también se ha descrito la amplificación de PIK3CA (419, 435-437). Lui por ejemplo, encuentra una frecuencia de amplificación en el CECC del 24,4% (419). Fenic, en su serie de 33 CECC, encontró que el número de copias de PIK3CA en los carcinomas epidermoides respecto a muestras tomadas de tejido sano, variaba desde 0.22 a 7.89, con una media de 2,27. El 36,4% de los CECC mostraban una ganancia en el número de copias mayor que 2 y el 12,1%, mayor que 4. La amplificación de PIK3CA en los carcinomas

respecto a muestras tomadas de tejido sano variaba de 0,4 a 7,46, con una media de 1,18. Sólo el 9% de los CECC mostraron amplificaciones >2 y un 3% >4 (435). Fenic, además de analizar la mutación, ganancia genómica y amplificación de PIK3CA, también analizó la expresión del ARNm de PIK3CA y de la proteína p110alfa y la expresión de Akt fosforilado (pAkt); y buscó relaciones con los datos clínicos e histológicos. La expresión de ARNm de PIK3CA varió entre 0,38 y 90,5 (media 8,28) y en un 48,5% de los casos había una sobreexpresión de este ARNm (>2). Sólo un caso de amplificación presentaba también ganancia en el número de copias. En el 21% de los carcinomas, la ganancia del número de copias se encontró asociada a una sobreexpresión del ARNm; mientras que un 24% de las muestras presentaron sobreexpresión de ARNm sin sobreexpresión del ADN. No se encontró ninguna asociación significativa entre la ganancia de ADN, la amplificación y la expresión de ARNm de PIK3CA. Shayesteh y Ma sí encontraron asociación entre la ganancia genómica de PIK3CA y el aumento tanto de la transcripción como de la translación en líneas celulares de cáncer de cérvix y de ovario (371, 392). Kozaki y Singh obtuvieron la misma relación en carcinomas epidermoides orales (409, 428). Fenic encontró correlaciones entre la ganancia de PIK3CA y la presencia de metástasis linfáticas ($p=0.025$), la expresión de ARNm y la clasificación T ($p=0.015$) y la amplificación y el grado histológico ($p=0.031$). También encontró una fuerte correlación entre la expresión de p110alfa y pAkt en los carcinomas. No se encontró en cambio relación entre la expresión de p110alfa o pAkt y la ganancia o amplificación de PIK3CA o la expresión de su ARNm. Pedrero y cols, en su serie de 117 CECC, encontraron un porcentaje de amplificación de PIK3CA de un 37% (431). Kozaki y cols, en su serie de 118 carcinomas epidermoides orales y 14 líneas celulares, encontraron un 16,7% de amplificaciones de PIK3CA (428). Ni Pedrero, ni Fenic ni Kozaki encontraron ninguna correlación entre la amplificación de PIK3CA y el estadio tumoral. Esta ausencia de correlación entre la amplificación de PIK3CA y el estadiaje tumoral, sumado a la alta incidencia de sobreexpresión de PIK3A en lesiones premalignas del tracto aerodigestivo superior (428, 431, 436, 438), sugieren que la amplificación de PIK3CA representa un evento temprano en el desarrollo del CECC, que confiere ventajas de crecimiento y propagación a las células tumorales. Stilo y Woenckhaus encontraron sobreexpresión y amplificación de PIK3CA en casos de displasia leve y moderada, y que el aumento en la frecuencia de estas alteraciones estaba asociado con la transición a cáncer invasivo (436, 437). Hashimoto, Liehr y Singh describen que la amplificación de 3q26, en el que se encuentra el gen PIK3CA, es frecuente en el CECC y está ligada a la progresión tumoral y negativamente correlacionada con el resultado clínico obtenido (439-441).

PIK3CA ha sido asociado con estadios avanzados, invasión vascular y metástasis en el CECC (428, 435-437). En otros muchos tipos de cánceres, también se ha descrito que las alteraciones de PIK3CA influyen en la predisposición al cáncer, progresión, recurrencia y pronóstico (340, 352, 356, 442-444).

Bockmül y Redon encontraron que las lesiones tempranas del CECC (displasias y carcinoma in situ) y los estadios precoces bien diferenciados (N0M0) presentaban un menor número de alteraciones genéticas que los tumores invasivos avanzados (438, 445). Para Redon, en su estudio de 21 CECC de distintas localizaciones, la amplificación de PIK3A podría ser un marcador potencial del resultado clínico (438). Woenckhaus fue el primero en describir las alteraciones genéticas de PIK3CA en lesiones premalignas del CECC (436). Encontraron que una de cada 6 displasias de bajo y moderado grado, pero 7 de nueve displasias de alto grado, mostraban aumento en el número de copias de PIK3CA. Un caso de displasia de alto grado presentaba

amplificación de PIK3CA. Todos los casos de carcinomas invasivos sin embargo, presentaban aumento en el número de copias, seis de ellos con amplificación de PIK3CA. Esto nos sugiere que la ganancia genómica de PIK3CA está involucrada en la progresión de displasia de alto grado a CECC invasivo. Por tanto, la ganancia de PIK3CA podría ser útil como marcador molecular para predecir el potencial de malignización de las lesiones premalignas. En un estudio de Subo, el autor demostró que el estado genómico a gran escala (ploidía ADN, contenido de ADN nuclear...) podría representar un marcador temprano con valor pronóstico para la transformación maligna (446). En un estudio de Heselmeyer, la ganancia en el cromosoma 3q fue sugerida como un evento clave en la transición de neoplasia preinvasiva a carcinoma invasivo de cérvix uterino (385). 3q es el sitio en el que se producen más frecuentemente ganancia genética y amplificación en el CECC (447-449). Woenckhaus también encontró un aumento en el porcentaje de alteraciones genéticas en 3q26 en asociación con un peor grado de diferenciación de los tumores invasivos y con un estadiaje más avanzado; concluye por tanto que la ganancia y amplificación de 3q26 representan probablemente eventos moleculares tempranos en la carcinogénesis del CECC. Y que, además, la sobreexpresión de p110alfa parece estar implicada en la progresión de displasia a un fenotipo invasivo (436). Distintos estudios han demostrado que PIK3CA es el objetivo más probable para la amplificación de 3q26 (371, 392, 438).

2.2.3 PIK3CA en el Carcinoma Epidermoide Oral

Los principales genes implicados en el desarrollo del CEO comprenden genes de proliferación celular (RB1, CDKN2A, CCND1); genes relacionados con la diferenciación celular (eje Notch/p63); genes relacionados con la supervivencia celular (EFGR, familia RAS, PIK3CA, PTEN, CASP8); y genes relacionados con la invasión y adhesión celular (familia TGFB, familia SMAD, FAT1).

El primero en describir la mutación de PIK3CA en el carcinoma epidermoide de la cavidad oral (CEO) fue Qui en el 2006, con una frecuencia del 10.8% (420). Este porcentaje es relativamente bajo si lo comparamos con otros cánceres humanos, como hemos visto en los apartados anteriores. Después de este estudio, otros describieron distintas frecuencias de mutación de PIK3CA en el CEO, variando desde un 0% a un 21% (422, 423, 435, 450). El porcentaje más alto de mutaciones de PIK3CA en el CEO fue de un 20.8% y lo publicó Qiu en el 2008, utilizando un nuevo método de secuenciación enriquecido (423). En el otro extremo están los estudios de Kostakis (450), Murugan (422) y Fenic (435), que no encontraron ninguna mutación de PIK3CA en sus series de CEO en pacientes griegos, vietnamitas y alemanes, respectivamente. Suda encontró un 2.6% de mutaciones en pacientes japoneses (451). Morris, un 6.4% en estadounidenses (427). Cohen, un 10.8% en israelíes (452). Zamaruddin, un 5.7% en malayos (33). Stransky, un 8.1% y Agrawal, un 2.5%, ambos en pacientes estadounidenses (415, 416). Bruckman, un 3%, también en estadounidenses (453). Murugan, un 10.5% en taiwaneses (422). Chang, un 14% en taiwaneses, también (454). Kozaki encontró un 10.3% de mutaciones en tailandeses y un 4% en japoneses (428). La frecuencia de mutación en líneas celulares de CEO alcanzó cifras más altas, un 21% en el estudio de Kozaki y un 29.5% en el de Murugan, ambos en pacientes japoneses (422, 428); las frecuencias de mutación en tumores primarios en estos estudios fue de 4% y 10.5%, respectivamente. Estos datos nos sugieren que la mutación de PIK3CA en el CEO podría tener alguna relación con la etnia, aunque estas frecuencias podrían estar influidas por otros factores, como el tamaño de las muestras, el método de secuenciación utili-

zado o el estadiaje tumoral. Esta diferencia en los perfiles genéticos de distintos grupos raciales, ya se ha sugerido en cánceres de otras localizaciones (455, 456). El porcentaje de mutaciones de determinados genes parece estar relacionado con la etnia (457, 458). Diferencias étnicas en cuanto a la dotación genética, el consumo de alcohol y tabaco y otros factores culturales podrían ser responsables de esta disparidad.

En una célula normal, no maligna, PI3K recibe señales de distintos receptores tirosín-quinasa (RTKs) de factores de crecimiento, como el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), el receptor de insulina (IR), etc. En la fisiología celular normal, la actividad PI3K está altamente controlada en su nivel basal (305, 459, 460). Sin embargo, cuando existe una alteración genética de PIK3CA, PI3K pierde su dependencia de las señales activadoras de las RTKs mediadas por los factores de crecimiento y se vuelve constitutivamente activa (318, 429). Esta activación constitutiva de la vía PI3K-Akt finalmente proporciona a la célula una ventaja para la supervivencia, proliferación, anti-apoptosis, tumorigénesis, angiogénesis, invasión y metástasis.

En el CEO, casi todas las mutaciones del gen PIK3CA descritas hasta el momento están situadas en los dominios C2, helicoidal y quinasa de la subunidad p110alfa. Las mutaciones en el dominio C2 no suelen verse en otros tipos de cánceres. Shekar demostró que las mutaciones en el dominio helicoidal llevaban a una pérdida de la capacidad inhibitoria de p85, lo que provocaba una activación constitutiva de PI3K (461). Se ha especulado que las mutaciones en el dominio helicoidal podrían empeorar la interacción entre las subunidades catalítica y reguladora (p85/p110alfa), eliminando la inhibición por parte de p85 (462). Zhao también ha propuesto que las mutaciones en el dominio helicoidal son necesarias para la interacción con Ras (305). Las mutaciones del dominio quinasa se localizan en una hélice próxima al lazo de activación (463). Estas mutaciones alteran la conformación de la hélice, lo que afecta a la afinidad por su sustrato lipídico PI3K (462, 464, 465). Estos cambios conformacionales provocan la activación de PI3K.

Las mutaciones asociadas al CEO fueron caracterizadas funcionalmente por primera vez por Murugan y colaboradores (422). Estos autores demostraron que los mutantes E545G, E545K, M1043V, H1047R y 319insA tenían todos actividad lípido-quinasa aumentada; también que promovían la migración e invasión *in vitro*. Además, estas mutaciones demostraron ser oncogénicas, basándose en su actividad lípido-quinasa aumentada, fosforilación de Akt aumentada y la eficiencia de transformación en fibroblastos de embrión de pollo (466). Todos estos datos sugieren que las mutaciones de PIK3CA encontradas en el cáncer oral son oncogénicas y contribuyen de forma significativa en la carcinogénesis.

Se ha descrito que las mutaciones de PIK3CA constituyen un evento temprano en la carcinogénesis de muchos cánceres humanos, como el de mama o el cáncer gástrico (288). Sin embargo, Kozaki encontró una frecuencia relativamente alta de mutaciones de PIK3CA (16%) en estadios avanzados de CEO (428). Esto nos sugiere que la mutación de PIK3CA en el CEO sería un evento tardío implicado en mecanismos de progresión tumoral, más que en el desarrollo tumoral inicial. En el estudio de Kozaki el porcentaje de mutaciones encontrado en 108 CEO fue del 7,4%. No hubo relaciones significativas entre mutación y sexo, etnia, hábito tabáquico, localización o grado histológico. Tampoco hubo relación entre mutación y amplificación de PIK3CA. Sí hubo relación estadísticamente significativa entre mutación y estadio tumoral.

Kozaki fue el primero en publicar esta asociación en el CEO. En cambio, el número de copias de PIK3CA se encontró aumentado en un 16.7% de las muestras, independientemente del estadio, lo que nos sugiere que la amplificación del gen sería un evento anterior a la mutación en el desarrollo del COC.

Cohen, en su serie de 37 CEO, encontró un 10,8% de mutaciones de PIK3CA. No encontró ninguna relación con la localización, el estadio o la supervivencia (452).

Chang, en su serie de 79 CEO en pacientes taiwaneses, encontró mutaciones de PIK3A en un 14% de las muestras. No encontró ninguna asociación con el sexo, edad, hábitos tóxicos, grado histológico, estadio T, presencia de metástasis ganglionares o supervivencia.

Zanaruddin encontró un 5,7% de mutaciones de PIK3CA y ninguna relación entre estas y los hábitos tóxicos o la supervivencia, en su serie de 107 CEO procedentes de pacientes de Malasia (33).

La amplificación, como hemos descrito, es otro modo de activación de un oncogén. Ya hemos descrito que la amplificación de 3q26, donde está localizado PIK3CA, es algo frecuente en los CECC (441, 445, 467-470). Como ya hemos comentado anteriormente, PIK3CA es el objetivo más probable para la amplificación de 3q26 (371, 392, 438). Distintos autores han descrito la amplificación de PIK3CA en CEO, con distintas frecuencias. Suda encontró un 2.6% de amplificaciones (451). Tu, un 49% (471). Santiago, un 38% (472). Fenic, un 9% (435). Kozaki, un 12% en taiwaneses y un 21% en japoneses (428). Pedrero, un 37% (431). El mayor porcentaje de amplificaciones de PIK3CA en el CEO lo describió Redon, un 66% (438).

Okafuki encontró que la ganancia en 3q26-28 se asociaba con estadios T2 y en adelante en CEO (473). Bockmül demostró además que la ganancia de 3q representaba un evento temprano que conducía a un fenotipo de CEO invasivo (474). Worsham encontró ganancia de PIK3CA en el 100% de líneas celulares de CEO (475). Woenckhaus encontró que la ganancia de 3q estaba asociada con el desarrollo del 78% de las displasias de alto grado y el 100% de los tumores invasivos (436). Estos hallazgos refuerzan la idea de que la amplificación de PIK3CA se correlaciona con CEO invasivos y metastásicos. Más de la mitad de los CEO presentan una ganancia en el número de copias para el locus 3q26. La amplificación de PIK3CA por su parte se ha descrito en un rango del 9% al 66.6% como vimos en el párrafo anterior. Stilo estudió los niveles de expresión de PIK3CA en el carcinoma epidermoide de lengua, encontrando un aumento significativo de la expresión con respecto a muestras tomadas de mucosa sana. Un 69.4% de las muestras mostraban sobreexpresión de PIK3CA. Además, esta sobreexpresión se correlacionó con el sexo femenino, el grado histológico y la presencia de infiltración vascular. No se encontró relación de la expresión del gen con la supervivencia (437).

3. JUSTIFICACIÓN/ HIPÓTESIS DEL TRABAJO





3. JUSTIFICACIÓN/ HIPÓTESIS DE TRABAJO

El proyecto de secuenciación del genoma humano y el avance tecnológico que lo acompañó ha revolucionado la genética humana en general y la genética de la patología en particular. Hoy en día podemos conocer la secuencia del genoma de cualquier célula, tejido u órgano, ya sea sano o enfermo. El futuro de esta tecnología es lo que se conoce como “medicina personalizada”, en la que cada paciente recibe un tratamiento distinto, totalmente individualizado. Esta nueva opción terapéutica es de especial utilidad en el cáncer, que constituye un conjunto de enfermedades cuyo origen surge de las alteraciones genéticas que pueden sufrir las células. En el carcinoma epidermoide oral, podemos observar cómo pacientes con el mismo perfil clínico-patológico responden de manera distinta a la misma terapia. Además, a pesar de los avances en las distintas variantes terapéuticas utilizadas en el tratamiento del carcinoma epidermoide oral (radioterapia fraccionada, radioterapia y quimioterapia concurrentes...) (4-8), la supervivencia global apenas ha mejorado, rondando el 50% a los 5 años (476).

Es por ello que consideramos de vital importancia la caracterización molecular del carcinoma epidermoide oral, con el objetivo último de averiguar sobre qué genes o rutas de señalización podríamos actuar y así poder diseñar y testar nuevas terapias antitumorales dirigidas contra estos genes alterados.

En distintos estudios, la frecuencia de mutaciones en el gen PIK3CA en el carcinoma epidermoide oral ha variado desde un 0% a un 21%, siendo una frecuencia relativamente baja si la comparamos con otros cánceres humanos. Sin embargo, si consideramos todo tipo de alteraciones genéticas de PIK3CA (por ejemplo amplificación), la frecuencia aumenta hasta un 31%. Por lo tanto, PIK3CA podría representar uno de los oncogenes más frecuentemente alterados en el carcinoma epidermoide oral, por lo que podría considerarse una posible diana terapéutica; esto permitiría un tratamiento más personalizado en los pacientes con carcinoma epidermoide oral con alteraciones en el oncogén PIK3CA.

Por todo esto, sería de gran utilidad averiguar la frecuencia de cambios genéticos en el gen PIK3CA en el carcinoma epidermoide oral en nuestra población, y averiguar si existe alguna relación entre este hecho y otros parámetros clínicos, patológicos o de supervivencia.



4. OBJETIVOS





4. OBJETIVOS

4.2 GENERALES:

- Determinar la frecuencia de mutaciones y amplificaciones en el gen PIK3CA en el carcinoma epidermoide oral y en lesiones precancerosas en nuestra población.
- Determinar si existe alguna relación entre la presencia de mutaciones/amplificaciones en el gen PIK3CA en nuestros pacientes y otras variables, tanto epidemiológicas como clínicas, histológicas o de tratamiento.
- Determinar si existe alguna relación entre la presencia de mutaciones/amplificaciones en el gen PIK3CA y la aparición de recidivas y la supervivencia (global y específica) en los pacientes con carcinoma epidermoide oral.

4.3 SECUNDARIOS:

- Describir las variables epidemiológicas, clínico-patológicas y terapéuticas de los pacientes con lesiones precancerosas y con carcinoma epidermoide oral en nuestra población.
- Determinar qué variables pronósticas influyen en la aparición de recidivas y en la supervivencia (global y específica) en los pacientes con carcinoma epidermoide oral.



5. MATERIAL Y MÉTODOS





5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.2 ÁMBITO

Este estudio ha sido realizado utilizando datos referentes a pacientes tratados en el Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial de la estructura organizativa de gestión integrada de A Coruña (EOXI A Coruña). Nuestro servicio ofrece atención tanto a la población del área sanitaria de A Coruña como a la de las áreas sanitarias de Lugo y Ferrol, dentro de la comunidad autónoma de Galicia. En total, damos servicio a 1.100.000 habitantes. Entre las patologías que tratamos se incluye el carcinoma epidermoide de la cavidad oral. Aproximadamente, 50 pacientes son intervenidos cada año en nuestro servicio por un carcinoma epidermoide oral, incluyendo en esta cifra sólo los tumores primarios.

5.3 PERÍODO

La recopilación de pacientes y muestras se inició en noviembre del 2009 y el último paciente fue incluido en enero del 2012. El seguimiento de los pacientes se dio por finalizado el 31 de diciembre del 2016, con lo que el seguimiento mínimo fue de 59 meses.

5.4 TIPO DE ESTUDIO

Se trata de un estudio observacional, longitudinal y prospectivo, en el que se estudió la frecuencia de cambios genéticos en el gen PIK3CA (mutaciones y amplificaciones) en pacientes con lesiones precancerosas y carcinoma epidermoide oral, y la posible relación entre estos cambios genéticos y otros parámetros, tanto clínicos como de supervivencia.

5.5 SELECCIÓN DE PACIENTES

Se seleccionaron pacientes remitidos a nuestro servicio por presentar lesiones precancerosas o carcinomas epidermoides en la cavidad oral, labio inferior u orofaringe. Antes de incluirlos en el estudio, se les informó verbalmente de en qué consistía el mismo. Se les entregó además una hoja con información por escrito (anexo 1) para que pudiesen leerla con calma y revocar su consentimiento en caso de no querer participar en el estudio. A los pacientes que aceptaron la participación en el estudio se les dio a firmar un consentimiento informado (anexo 2), del que se llevaron una copia.

5.5.1 Criterios de inclusión

-Presentar una lesión precancerosa (leucoplasia, líquen o eritroplasia) o un carcinoma epidermoide en cualquiera de las siguientes localizaciones:

- o Labio inferior.
- o Cavidad oral.
- o Orofaringe.

- Dar su consentimiento informado para la participación en el estudio.

5.5.2 Criterios de exclusión

-No cumplir con alguno de los criterios de inclusión citados anteriormente.

5.6 PROCEDIMIENTO

5.6.1 Recogida de datos

Una vez que el paciente hubo aceptado participar en el estudio, se realizó una recogida de datos inicial, obtenidos de la exploración clínica y de la entrevista con el paciente. Se recogieron en este momento las variables demográficas, las relacionadas con factores de riesgo para presentar un carcinoma epidermoide oral y variables clínicas referentes a la lesión y al paciente. Los valores de estas variables se incorporaron a la hoja de recogida de datos.

5.6.2 Toma de las muestras

A todos los pacientes que aceptaron formar parte del estudio se les tomó tres muestras, bajo anestesia local y en un mismo procedimiento:

- Un fragmento de la lesión precancerosa o cancerosa (o clínicamente compatible con lesión precancerosa/cancerosa) para la confirmación histológica.
- Un fragmento de la lesión precancerosa o cancerosa (o clínicamente compatible con lesión precancerosa/cancerosa) para el estudio genómico (mutación y amplificación PIK-3CA).
- Un fragmento de mucosa sana adyacente a la lesión para el estudio genómico (mutación y amplificación PIK3CA).

5.6.3 Procesamiento de las muestras

-Las muestras tomadas para el estudio histológico se enviaron en formol al servicio de anatomía patológica, según el procedimiento habitual en nuestro hospital. Con este diagnóstico anatomopatológico se clasificó las lesiones como premalignas (leucoplasia, líquen o eritroplasia sin presencia de carcinoma epidermoide) o malignas (carcinoma epidermoide).

-Las muestras tomadas para el estudio genómico, tanto las correspondientes a tejido altera-

do como las de tejido sano, se procesaron de la siguiente forma:

o Almacenamiento: para proteger el ARN de las muestras, se utilizó RNAlater®. RNAlater® es una solución que penetra rápidamente en los tejidos para estabilizar y proteger el ARN celular; inmediatamente tras el contacto, el agente difunde en células individuales y en la capa superficial y partes externas de tejidos sólidos. RNAlater® minimiza la necesidad de procesar inmediatamente las muestras o de congelarlas en nitrógeno líquido para su procesamiento posterior, sin comprometer la calidad o cantidad de ARN obtenido. Con el objetivo de asegurar una estabilización del ARN rápida y fiable incluso en las partes más internas de tejidos sólidos, las muestras deben ser cortadas en lonchas de menos de 0,5 cm de anchura. Las muestras pueden tener el tamaño que sea, siempre que una de sus dimensiones sea menor de 0,5 cm. Además, las muestras deben ser sumergidas totalmente en RNAlater®, inmediatamente después de su obtención. Un volumen apropiado de RNAlater® es esencial para conseguir una estabilización fiable del ARN en los tejidos. El tejido debe ser almacenado en al menos 10 volúmenes de RNAlater®.

RNAlater® podría formar un precipitado si se guarda a temperatura ambiente (15–25°C). Por tanto, una vez sumergidas las muestras en RNAlater®, las muestras fueron incubadas durante 24 horas a 2–8°C (nevera). Pasado este tiempo mínimo de 24 horas, se conservaron las muestras a -20°C (congelador), donde pueden permanecer meses.

El RNAlater® que hemos utilizado se compró a Applied Biosystems, que lo dispensa ya alicuotado en tubos (libres de ARNasas) de 1,5 ml.

o Envío de las muestras al Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), que es un organismo público de investigación adscrito al Ministerio de Economía y Competitividad a través de la Secretaría de Estado de Investigación, Desarrollo e Innovación. En este centro se realizó el análisis genómico.

Todas las muestras se enviaron etiquetadas con un código que fue asignando de forma correlativa, sin que pudiesen identificarse en ningún momento ni lugar los datos personales de los pacientes, garantizando así la confidencialidad de los mismos.

5.6.4 Análisis de las muestras

Todas las muestras fueron valoradas previamente por un patólogo, que las descartó si su contenido en células tumorales era menor de un 60-70%.

- Purificación del ADN celular y ARN total, incluyendo los ARNm: para purificar ADN genómico de las muestras humanas se utilizó el kit de Qiagen “DNeasy Blood & Tissue Kit”. Para purificar simultáneamente ARNm y ARNm se utilizó el kit “miRNeasy Mini Kit”. Para testar la calidad del material purificado se empleó el “Agilent 2100 Bioanalyzer”; sólo se hibridaron a biochips las muestras con una calidad mínima según criterios estandarizados.

- El ADN y el ARN purificado de las muestras tumorales de cada paciente fueron enviados a la Unidad de Genómica del Centro de Investigación del Cáncer de Salamanca, donde

fueron procesados adecuadamente para su hibridación con el biochip especificado.

- El ADN se hibridó al biochip (o “microarray”) de Affymetrix “Genome-Wide Human SNP Array 6.0”, que contiene 1.8 millones de marcadores genéticos, incluyendo más de 906.600 polimorfismos de nucleótido único o “single nucleotide polymorphisms” -SNPs-) y más de 946.000 sondas para la detección de variación en el número de copias (CNV).
- El ARN mensajero (ARNm) se hibridó al biochip (o “microarray”) de Affymetrix “HG-U133 Plus 2.0”, que posee sondas para 47.000 transcritos.
- Para el análisis del biochip de “Genome-Wide Human SNP Array 6.0” se utilizó el software de Affymetrix “Genotyping Console”, que busca eventos de LOH (pérdida de heterocigosidad) y CNV, delimitando las regiones cromosómicas que han perdido uno o los dos alelos y las regiones que poseen más de dos copias o zonas de amplificación.
- El análisis del biochip “HG-U133 Plus 2.0” se realizó con:

- o Software RMAExpress, para la extracción y normalización de la señal de intensidad de cada sonda.
- o Software Multiexperiment Viewer (MeV), para el análisis estadístico de expresión génica diferencial (Ttest, Anova, SAM, etc.) y agrupamiento de tumores (agrupamiento jerárquico –HCL-, agrupamiento por medias K –KMC-, SOTA, etc.).
- o Software DAVID para el análisis de enriquecimiento de los grupos de genes seleccionados.

-La integración de los datos obtenidos de ambos biochips se hizo con Bioconductor y con el software Integrative Genomics Viewer (IGV).

5.6.5 Clasificación y seguimiento de los pacientes

- Lesiones premalignas: el seguimiento de estos pacientes consistió en comprobar si habían fallecido o no (recogiendo la causa de muerte en caso de haber fallecido); si la lesión premaligna había sufrido malignización, degenerando en un carcinoma epidermoide; o si había surgido otro carcinoma epidermoide oral; y si había aparecido un segundo primario de cabeza y cuello u otro tumor maligno durante el período de seguimiento.
- Lesiones malignas (carcinomas epidermoides): se recogieron, además de los datos descritos anteriormente y recolectados en el momento en el que el paciente aceptó participar en el estudio, nuevas variables referentes al tipo de tratamiento realizado, datos histológicos de la pieza tumoral resecada, datos sobre el estudio genómico y datos referentes a la evolución del paciente, tanto a la presencia o no de recidivas y el tipo de recidiva, como a la supervivencia (global y específica).

5.7 DEFINICIÓN Y CODIFICACIÓN DE VARIABLES

5.7.1 Variables demográficas

- Edad: se calculó a partir de la fecha de nacimiento del paciente (tomada de su historia clínica); de la diferencia entre ésta y la fecha de la toma de la muestra se obtuvo la edad del paciente. Variable cuantitativa expresada en años.
- Sexo: variable cualitativa codificada dicotómicamente: masculino y femenino.

5.7.2 Variables relacionadas con la etiología.

- Hábito tabáquico. Inicialmente, en la hoja de datos, se recogió si el paciente era fumador en ese momento, exfumador o no fumador. En el caso de los fumadores y exfumadores, se recogió además la cantidad de cigarrillos fumados al día y durante cuántos años habían sido fumadores activos. Después, con la intención de encontrar relaciones estadísticamente significativas entre el hábito tabáquico y otras variables, se hicieron distintas clasificaciones:

- o No fumador/fumador/exfumador.
- o No fumador en el momento de la toma de la muestra y durante el año previo/fumador en el momento de la toma de la muestra o durante el año previo.
- o Nunca fumador activo/alguna vez fumador activo.
- o No fumador o exfumador desde 10 años antes/fumador o exfumador desde menos de 10 años antes.
- o No fumador (o exfumador desde 10 años antes)/fumador leve (>5 cigarrillos/día)/fumador moderado (5-16 cigarrillos/día)/fumador severo (>15 cigarrillos/día).

Para el estudio descriptivo se utilizó la primera clasificación (no fumador/fumador/exfumador). Para estudiar la asociación entre variables y para los estudios de supervivencia y recidiva se utilizó la cuarta clasificación (no fumador o exfumador desde 10 años antes/fumador o exfumador desde menos de 10 años antes), con el fin de buscar resultados significativos.

- Consumo de alcohol. Inicialmente, en la hoja de datos, se recogió si el paciente era bebedor en ese momento, exbebedor o no bebedor. En el caso de los bebedores y exbebedores, se recogió además la cantidad de alcohol consumida al día y durante cuántos años. Después, con la intención de buscar relaciones estadísticamente significativas entre el consumo de alcohol y otras variables, se hicieron distintas clasificaciones:

- o Sistema del recuerdo retrospectivo del consumo de alcohol (Encuesta de Salud de la C.A. del País Vasco) (477).
 - No bebedor: aquel que refiere no haber bebido bebidas alcohólicas con frecuencia nunca.
 - Exbebedor: aquel que refiere haber bebido por lo menos una vez por semana, pero que durante el último año no lo ha hecho, o lo ha hecho con una periodicidad inferior a la semanal.
 - Bebedor ocasional: aquel que refiere haber bebido durante el último año, pero menos de una vez por semana.
 - Bebedor habitual: aquel que refiere haber consumido bebidas alcohólicas al menos una vez por semana durante el último año. Dentro de este grupo, se diferencian:
 - Bebedor moderado: menos de 50cc de alcohol diarios en hombres (40g) y menos de 30cc de alcohol diarios en mujeres (24g).
 - Gran bebedor: 51 a 90 cc de alcohol diarios (41 a 72g) en hombres y 31 a 54 cc en mujeres (25 a 42g).

- Bebedor excesivo: 91 o más cc de alcohol diarios (72g) en hombres o más de 55cc de alcohol diarios (52g) en mujeres.
- El cálculo de la cantidad de alcohol consumida se hizo en base a los datos de la tabla 2.

- o No bebedor/bebedor/exbebedor.
- o No bebedor en el momento de la toma de la muestra y durante el año previo/bebedor en el momento de la toma de la muestra o durante el año previo.
- o Nunca bebedor/alguna vez bebedor.

Para el estudio descriptivo se utilizó la segunda clasificación (no bebedor/bebedor/exbebedor). Para estudiar la asociación entre variables y para los estudios de supervivencia y recidiva se utilizó la cuarta clasificación (nunca bebedor/alguna vez bebedor), con el fin de buscar resultados significativos.

- Lesiones precancerosas previas: esta variable se recogió sólo en los carcinomas epidermoides. Se registró si en la zona del tumor previamente el paciente tenía alguna lesión precancerosa (leucoplasia, eritroplasia u otras) (478). Se clasificó dicotómicamente como sí/no.

5.7.3 Variables clínicas

-Comorbilidad: para valorar la influencia de la comorbilidad del paciente en el riesgo de mortalidad se utilizó el índice de Charlson (479). Charlson trató de desarrollar un método que permitiese clasificar la morbilidad de los pacientes y que podría influir en el riesgo de mortalidad, para poder utilizarlo en estudios longitudinales. Este índice tiene en cuenta tanto el número como la gravedad de las distintas comorbilidades. Según el valor de este índice, Charlson encontró que la mortalidad al año variaba desde un 12% para valores de 0; 26% para valores de 1 o 2; 52% para valores de 3 o 4; y 85% para valores iguales o mayores de 5. El índice fue adaptado para un seguimiento de 10 años; en este caso el porcentaje de pacientes que fallecieron por una enfermedad concomitante fue del 8% para pacientes con valores de 0; 25% para pacientes con valores de 1; 48% para pacientes con valores de 2; y 48% para pacientes con valores de 3 o mayores, encontrando además que la edad representaba por sí misma un factor predictor de mortalidad. Así, el índice de comorbilidad de Charlson predice la mortalidad a 10 años vista para un paciente que podría tener un determinado grupo de comorbilidades (en total 22), como podrían ser cardiopatía, VIH (virus de inmunodeficiencia humana) o cáncer. Cada una de estas comorbilidades tendría asignado un valor (1, 2, 3 o 6), dependiendo del riesgo de muerte asociado con la misma. La suma de todos los valores nos daría el riesgo de mortalidad de ese paciente a los 10 años (anexo 3).

- Tipo de lesión: precáncer/cáncer.
- Diámetro máximo: se recogió sólo en los carcinomas epidermoides. En centímetros.
- Tiempo de evolución: en meses.
- Localización. Se utilizó la clasificación de la American Joint Committee for Cancer Staging (55). Así, se distinguieron las siguientes localizaciones:

- o Labio inferior.
- o Lengua móvil.
- o Base de lengua.
- o Suelo de boca.
- o Mucosa yugal.
- o Encía adherida/mucosa alveolar (superior o inferior).
- o Trígono.
- o Paladar.
- o Orofaringe.

Para el análisis bivariante y el análisis de supervivencia se recodificó esta variable, agrupando por un lado las lesiones de cavidad oral y por otro las de orofaringe.

-Patrón macroscópico. Se clasificó los carcinomas epidermoides de acuerdo con su aspecto macroscópico en (480):

- o Ulcerados: aquellos que presentaban al menos en parte algún componente ulceroso.
- o No ulcerados.

- Afectación ósea clínica: valorada según la exploración clínica y las pruebas de imagen, se clasificó dicotómicamente como sí o no. Sólo se utilizó en el estudio descriptivo, para el análisis bivariante y el estudio de supervivencia se utilizó la afectación ósea en el estudio histológico.

- Afectación ganglionar clínica: valorada según la exploración clínica y las pruebas de imagen, se clasificó dicotómicamente como sí o no. Sólo se utilizó en el estudio descriptivo, para el análisis bivariante y el estudio de supervivencia se utilizó la afectación ganglionar en el estudio histológico.

- TNM clínico. Sólo se utilizó en el estudio descriptivo, para el análisis bivariante y el estudio de supervivencia se utilizó el pTNM.

- Estadaje clínico. Sólo se utilizó en el estudio descriptivo, para el análisis bivariante y el estudio de supervivencia se utilizó el pEstadaje.

5.7.4 Variables relacionadas con el tratamiento

-Intención (curativa o paliativa) del tratamiento. Todos nuestros pacientes fueron tratados inicialmente con una intención curativa.

-Fecha de inicio del tratamiento, considerando como la misma el día de la intervención en caso de carcinomas tratados mediante cirugía o asociación de cirugía y otras terapias complementarias; o el primer día de la aplicación de la radioterapia, en caso de carcinomas tratados inicialmente mediante radioterapia. Sólo se recogió en los carcinomas epidermoides.

-Tipo de tratamiento: se diferenciaron distintas variedades de tratamiento:

- o Cirugía sólo.
- o Radioterapia sólo.
- o Cirugía y radioterapia complementaria.
- o Cirugía y radioquimioterapia complementarias.

No se diferenciaron otras asociaciones porque no hubo ningún paciente en el que se utilizase ninguna otra asociación de terapias.

Posteriormente, para el análisis bivalente y el estudio de supervivencia, se recodificó esta variable, agrupando por un lado los que fueron tratados sólo con cirugía y los que recibieron otras modalidades de tratamiento o asociaciones de las mismas.

- Resección: en el caso de los carcinomas que recibieron tratamiento quirúrgico como modalidad única o asociada a otras modalidades terapéuticas, se recogió el tipo de resección realizada:

- o Tumorectomía incluyendo sólo tejidos blandos.
- o Tumorectomía incluyendo mandibulectomía marginal.
- o Tumorectomía incluyendo mandibulectomía segmentaria.
- o Mandibulectomía segmentaria + maxilectomía.
- o Maxilectomía.

Posteriormente, para el análisis bivalente y el estudio de supervivencia, se recodificó esta variable, agrupando por un lado los que precisaron sólo de resección de tejidos blandos y aquellos en los que la exéresis tumoral incluyó resección ósea.

-Reconstrucción del defecto oncológico: en el caso de los carcinomas que recibieron tratamiento quirúrgico como modalidad única o asociada a otras modalidades terapéuticas, se recogió el tipo de cirugía reconstructiva llevada a cabo:

- o Cierre borde a borde (o defecto oncológico cruento).
- o Colgajo local.
- o Colgajo regional.
- o Colgajo libre microvascularizado.

Posteriormente, para el análisis bivalente y el estudio de supervivencia, se recodificó esta variable, agrupando por un lado los cierres borde a borde (y los lechos quirúrgicos cruentos) y los pequeños colgajos locales; y por otro los colgajos regionales y los colgajos libres.

-Dissección cervical: en el caso de los carcinomas que recibieron tratamiento quirúrgico como modalidad única o asociada a otras modalidades terapéuticas, se recogió:

- o Por un lado la realización o no de vaciamiento cervical (se incluyó en la variable no vaciamiento cervical aquellos casos en los que se realizó biopsia de ganglio centinela y éste salió negativo). Esta variable fue la que se utilizó en el análisis bivalente y en el estudio de supervivencia.
- o Por otro lado se recogió el tipo de tratamiento del cuello realizado:
 - Dissección cervical unilateral supraomohioidea.
 - Dissección cervical unilateral funcional/radical.
 - Dissección cervical bilateral.
 - Biopsia de ganglio centinela.

-Realización de traqueotomía: en el caso de los carcinomas que recibieron tratamiento quirúrgico como modalidad única o asociada a otras modalidades terapéuticas, se recogió también si fue necesario realizar traqueotomía o no y si ésta se realizó de forma programada o urgente.

-Presencia de complicaciones postoperatorias: en el caso de los carcinomas que recibieron tratamiento quirúrgico como modalidad única o asociada a otras modalidades terapéuticas, se recogió la ocurrencia o no de complicaciones postoperatorias, como sangrado, dehiscencia de heridas, necrosis del colgajo, éxitus... Se clasificó dicotómicamente (sí o no). Además, se creó otra variable a partir de ésta, recogiendo aquellos pacientes que habían tenido complicaciones relacionadas con el colgajo (dehiscencia o fracaso del mismo) frente a aquellos que no las habían tenido.

-Tiempo de ingreso: en el caso de los carcinomas que recibieron tratamiento quirúrgico como modalidad única o asociada a otras modalidades terapéuticas, se recogió además el tiempo de ingreso hospitalario. Los pacientes fueron ingresados el día antes de la intervención. A partir de esta fecha y la fecha de alta hospitalaria, se calculó el tiempo de ingreso hospitalario, contabilizado en días.

5.7.5 Variables relacionadas con el análisis histológico

- Afectación de márgenes: en el caso de los carcinomas que recibieron tratamiento quirúrgico como modalidad única o asociada a otras modalidades terapéuticas, se analizó la afectación de los márgenes de la pieza de resección, clasificando dichos márgenes como:

- o Libres de afectación tumoral.
- o Afectación tumoral próxima a los márgenes quirúrgicos.
- o Márgenes quirúrgicos con afectación tumoral (márgenes afectados).

- Afectación ósea: en el caso de los carcinomas que recibieron tratamiento quirúrgico como modalidad única o asociada a otras modalidades terapéuticas, se analizó la afectación del hueso por el tumor, tras realizar decalcificación de la pieza ósea resecada. Se clasificó esta variable dicotómicamente (sí o no).

- Grado de diferenciación: se utilizaron los criterios de la AJCC (55). Según estos, se establecen cuatro grados de diferenciación, correspondiendo el grado 1 a células con una buena diferenciación y el grado 4 a células totalmente indiferenciadas.

- o Gx: no se pudo establecer el grado de diferenciación.
- o G1: bien diferenciado.
- o G2: moderadamente diferenciado.
- o G3: pobremente diferenciado.
- o G4: indiferenciado.

Se recodificó esta variable, agrupando de la siguiente forma:

- o Tumores bien diferenciados.
- o Tumores moderadamente diferenciados.
- o Tumores pobremente diferenciados o indiferenciados.

-Afectación ganglionar: en el caso de los carcinomas que recibieron tratamiento quirúrgico como modalidad única o asociada a otras modalidades terapéuticas, y que éste conllevó algún tipo de disección cervical (incluidos los casos en los que se realizó biopsia de ganglio centinela), se analizó la afectación tumoral de los ganglios linfáticos resecados. Esta variable se clasificó dicotómicamente (sí o no).

-Invasión extracapsular: en el caso de los carcinomas que recibieron tratamiento quirúrgico como modalidad única o asociada a otras modalidades terapéuticas, y que éste conllevó algún tipo de disección cervical (incluidos los casos en los que se realizó biopsia de ganglio centinela), se analizó la existencia de invasión extracapsular. Esta variable se clasificó dicotómicamente (sí o no).

-Invasión perineural: en el caso de los carcinomas que recibieron tratamiento quirúrgico como modalidad única o asociada a otras modalidades terapéuticas, se analizó la presencia de un factor histológico de mal pronóstico como es la afectación tumoral perineural. Se clasificó esta variable dicotómicamente (sí o no).

-Invasión perivascular: en el caso de los carcinomas que recibieron tratamiento quirúrgico como modalidad única o asociada a otras modalidades terapéuticas, se analizó la presencia de un factor histológico de mal pronóstico como es la afectación tumoral perivascular. Se clasificó esta variable dicotómicamente (sí o no).

-Clasificación TNM: En el caso de los carcinomas que recibieron tratamiento quirúrgico como modalidad única o asociada a otras modalidades terapéuticas, se clasificaron los parámetros T, N y M de forma independiente, de acuerdo con el estudio anatomopatológico de las piezas quirúrgicas (55) (anexo3). En el caso de los carcinomas que no recibieron tratamiento quirúrgico se determinó el TNM clínico, que se basa en toda la información disponible antes del tratamiento definitivo, proveniente de la exploración física, pruebas de imagen y otras técnicas.

- o T: tamaño tumoral.
 - TX: el tamaño tumoral no puede ser evaluado.
 - T0: no evidencia de tumor primario.
 - Tis: carcinoma epidermoide in situ.
 - T1: tumor de 2 cm o menos de dimensión máxima.
 - T2: tumor de más de 2 cm pero no más de 4 cm de dimensión máxima.
 - T3: tumor de más de 4 cm de dimensión máxima.
 - T4:
 - Labio: tumor que invade la cortical ósea, el nervio dentario inferior, el suelo de la boca o la piel de la cara (p. ej. del mentón o de la nariz).
 - Cavity oral:
 - o T4a: tumor que invade la cortical ósea, la musculatura extrínseca de la lengua, el seno maxilar o la piel de la cara.
 - o T4b: tumor que invade el espacio masticador, las apófisis pterigoides,

- la base del cráneo y/o la arteria carótida interna.
- o N: afectación de los ganglios linfáticos regionales:
 - NX: los ganglios linfáticos regionales no pueden ser evaluados.
 - N0: ningún ganglio linfático regional metastatizado por tumor.
 - N1: metástasis en un único ganglio linfático ipsilateral, de como máximo 3 cm de dimensión máxima.
 - N2:
 - N2a: metástasis en un único ganglio linfático ipsilateral, mayor de 3 cm pero no mayor de 6 cm en su dimensión máxima.
 - N2b: metástasis en múltiples ganglios linfáticos ipsilaterales, ninguno mayor de 6 cm de dimensión máxima.
 - N2c: metástasis linfática contralateral o bilaterales, ninguna mayor de 6 cm de dimensión máxima.
 - N3: metástasis en algún ganglio linfático regional mayor de 6 cm de diámetro máximo.
 - o M: metástasis a distancia.
 - MX: la presencia de metástasis a distancia no puede ser evaluada.
 - M0: ausencia de metástasis a distancia.
 - M1: presencia de metástasis a distancia.

En cuanto al T, inicialmente se recogió si el tumor se correspondía con un T1, T2, T3 o T4. Posteriormente se recodificó esta variable, reagrupando por un lado los T precoces (1 y 2) y por otro los T avanzados (3 y 4).

En cuanto al N, inicialmente se recogió si el tumor se correspondía con un N1, N2 o N3. Para el análisis bivariante y el estudio de supervivencia decidimos desechar esta variable y quedarnos con la variable afectación ganglionar.

No se tuvo en cuenta el M, dado que todos los pacientes fueron Mx o M0.

-Estadio tumoral: agrupando los valores de T, N y M, se clasificó los carcinomas epidermoides en distintos estadios tumorales, de acuerdo con los criterios de la AJCC (55).

- o Estadio 0: carcinoma in situ (Tis) sin diseminación a los ganglios linfáticos (N0) ni metástasis a distancia (M0).
- o Estadio I: tumor pequeño (T1) sin diseminación a los ganglios linfáticos (N0) ni metástasis a distancia (M0).
- o Estadio II: tumor de menos de 4 cm (T2) sin diseminación a los ganglios linfáticos (N0) ni metástasis a distancia (M0).
- o Estadio III: tumor de mayor tamaño (T3) sin diseminación a los ganglios linfáticos (N0) ni metástasis a distancia (M0); también tumores más pequeños (T1 y T2) con diseminación a un único ganglio linfático ipsilateral (N1) pero sin metástasis a distancia (M0).
- o Estadio IVA: cualquier tumor invasivo (T4a) sin diseminación a los ganglios linfáticos (N0) o diseminación a un único ganglio linfático ipsilateral (N1) sin metástasis a distancia (M0); también tumores de cualquier tamaño con compromiso ganglionar más significativo (N2) pero sin metástasis a distancia (M0).
- o Estadio IVB: tumor de cualquier tamaño (cualquier T) con diseminación gan-

gliionar extensa (N3) pero sin metástasis a distancia (M0).

o Estadio IVC: tumor de cualquier tamaño (cualquier T) y diseminación linfática de cualquier nivel (cualquier N), con enfermedad a distancia (M1).

Inicialmente se recogió si el estadiaje tumoral se correspondía con un estadio I, II, III o IV. Posteriormente se recodificó esta variable, agrupando por un lado los estadios precoces (I y II) y por otro los estadios avanzados (III y IV).

5.7.6 Variables relacionadas con el análisis genómico

- Mutación del gen PIK3CA: Se analizó la presencia de mutación del gen PIK3CA en cada muestra, tanto en las lesiones precancerosas como en los carcinomas epidermoides orales. Se clasificó las muestras de la siguiente forma:

o Por un lado se consideró si la mutación estaba presente o no, clasificando esta variable dicotómicamente como sí o no.

o Por otro lado, en los casos en los que la mutación estaba presente, se recogió el tipo de mutación.

- Mutación E542K.
- Mutación E545K/D.
- Mutación H1047R.

- Amplificación del gen PIK3CA: Se analizó la presencia de amplificación del gen PIK3CA en cada muestra, tanto en las lesiones precancerosas como en los carcinomas epidermoides orales. Se clasificó esta variable dicotómicamente como sí o no.

5.7.7 Variables relacionadas con la evolución del paciente y la enfermedad

- Desarrollo de tumores malignos en localizaciones distintas a cabeza y cuello. Se clasificó dicotómicamente como si/no. Se incluyó en el valor “si” el desarrollo de estos tumores tanto durante el período de seguimiento como previamente a la incorporación del paciente en el estudio; es decir, a lo largo de su vida.

- Desarrollo de tumores malignos en cabeza y cuello. Se clasificó dicotómicamente como si/no. Se incluyó en el valor “si” el desarrollo de estos tumores tanto durante el período de seguimiento como previamente a la incorporación del paciente en el estudio; es decir, a lo largo de su vida. Se incluyó en este grupo el carcinoma epidermoide oral objeto de nuestro estudio.

- Número de tumores malignos desarrollados. Variable numérica. Se sumó todos los tumores malignos desarrollados por el paciente tanto durante el período de seguimiento como previamente a la incorporación del paciente en el estudio; es decir, a lo largo de su vida. Se incluyó en este número el carcinoma epidermoide oral objeto de nuestro estudio.

- Recidiva: Se consideró como recidiva tumoral la reaparición de enfermedad tumoral en un paciente previamente tratado con intención curativa al menos 3 meses después de finalizado dicho tratamiento.

o Inicialmente se recogió uno de los siguientes valores respecto a la recidiva:

- Ausencia de recidiva tumoral durante todo el período de seguimiento.
- Presencia de al menos una recidiva tumoral durante el período de seguimiento.
- Persistencia tumoral (no desaparición por completo de la enfermedad tumoral inicial o reaparición antes de finalizados los 3 meses siguientes a la fecha de finalización del tratamiento oncológico).
- Aparición de un segundo tumor primario en las vías aéreo-digestivas superiores.

o A continuación, se recodificó esta variable, considerando únicamente aquellos que habían sufrido una recidiva tumoral y aquellos que no (dicotómicamente). La reaparición de enfermedad tumoral antes de pasados 3 meses de la finalización del tratamiento se consideró como persistencia tumoral y no se clasificó como recidiva. Tampoco la aparición de segundos tumores primarios fue clasificada como recidiva.

- Tiempo transcurrido hasta la recidiva: se calculó a partir de la fecha de aparición de la recidiva (registrada en la hoja de datos); de la diferencia entre ésta y la fecha de inicio del tratamiento oncológico obtuvimos el tiempo transcurrido hasta la aparición de la recidiva. Variable cuantitativa expresada en meses.

- Tipo de recidiva: según la localización de la recidiva tumoral, se clasificó esta variable de la siguiente forma:

- Local: reaparición de la enfermedad tumoral en el mismo lugar del tumor primario.
- Regional: reaparición de la enfermedad tumoral en los ganglios linfáticos cervicales.
- Locorregional: reaparición de la enfermedad tumoral tanto en el lugar del tumor primario como en los ganglios linfáticos cervicales.
- A distancia (metástasis): reaparición de la enfermedad tumoral en un órgano u parte del cuerpo distinto del tumor primario y no conectado directamente con él (481, 482).

Posteriormente, para el análisis bivariante y el estudio de supervivencia, se recodificó esta variable, considerando por un lado las recidivas locales y, por otro, las regionales, locorregionales y a distancia.

- Supervivencia:

o Éxitus: el seguimiento de los pacientes fue finalizado el 31 de diciembre del 2016. Se clasificó esta variable de dos formas:

- No: si el paciente no ha fallecido al final del período de estudio. Se consideró como fecha del último contacto la última revisión.
- Si: pacientes que fallecieron durante el período de estudio, fuese a causa de la progresión tumoral o por otra causa no relacionada. Se consideró como fecha del último contacto la fecha del éxitus.

Se utilizó esta variable para la supervivencia global.

o Causa de la muerte: esta variable se recogió sólo en los pacientes fallecidos durante el período de seguimiento, y se clasificó de la siguiente manera:

- Fallecidos por causa de la progresión de su enfermedad tumoral.
- Fallecidos por otra causa no relacionada con la progresión de su enfermedad tumoral (incluimos en este grupo a los pacientes fallecidos durante el postoperatorio por complicaciones médicas o quirúrgicas no relacionadas con la progresión de la enfermedad aunque sí tuviesen relación con el tratamiento de la misma; y también aquellos pacientes que fallecieron por un tumor distinto al objeto de nuestro estudio).

o A partir de la anterior se recodificó la variable causa de muerte, obteniendo dos nuevas variables:

- Mortalidad por el cáncer objeto de estudio: aquellos que fallecieron por la progresión del carcinoma epidermoide oral al que se realizó el estudio genómico. Se codificó dicotómicamente como sí o no. Se utilizó esta variable para la supervivencia específica.
- Mortalidad por cáncer: aquellos que fallecieron por la progresión de cualquier tumor maligno, ya fuese el carcinoma epidermoide oral al que se le hizo el estudio genómico u otro distinto de localización tanto en cabeza y cuello como en otras partes del organismo. Se codificó dicotómicamente como sí o no.

o Tiempo de seguimiento:

- Desde la toma de la biopsia hasta la fecha del último contacto. Se calculó tanto en las lesiones precancerosas como en los carcinomas epidermoides, restando de la fecha del último contacto la fecha de la toma de la muestra para el análisis genómico. Se utilizó para comparar el tiempo de seguimiento en el grupo de lesiones precancerosas y en la muestra global.
- Desde el inicio de tratamiento hasta la fecha del último contacto. Se calculó sólo en los carcinomas epidermoides, restando de la fecha del último contacto la fecha de inicio del tratamiento. Se utilizó para los análisis de supervivencia y recidiva. A pesar de que en los carcinomas se calculó también el tiempo transcurrido desde la toma de la muestra para el análisis genómico hasta la fecha del último contacto, no se utilizó este tiempo para los estudios de recidiva y supervivencia porque en algunos pacientes esta muestra se tomó durante la biopsia diagnóstica y en otros durante la resección tumoral.

5.8 MÉTODO ESTADÍSTICO

- Análisis descriptivo: las variables cualitativas se expresaron como media \pm desviación típica, mediana y rango. Las variables cuantitativas se expresaron en valor absoluto y porcentaje con la estimación de su intervalo de confianza (IC) al 95%.
- La asociación entre variables cualitativas se estudió mediante el test chi-cuadrado. Se realizó la comparación de medias, tras comprobar la normalidad con el test de Kolmogorov-Smirnov, con el test T-Student o U de Mann-Whitney, según procediese. La comparación de medias para más de 2 grupos se realizó con el test ANOVA o el test de Kruskal-Wallis, según procediese.
- La asociación entre variables cuantitativas se estudió con el coeficiente de correlación de Pearson o Spearman, según procediese.
- El estudio de los factores de impacto en las variables respuesta se realizó mediante regresión logística univariante y multivariante, ajustando por posibles factores confusores.
- Para el análisis de supervivencia global de los pacientes se utilizó la metodología de Kaplan-Meier. Se presenta la mediana de supervivencia, junto con el intervalo de confianza correspondiente. La comparación de las curvas de supervivencia entre grupos se realizó a través de la prueba Log-Rank.
- Para ajustar por aquellos factores que pudiesen influir en la supervivencia global y específica de los pacientes a estudio se utilizó un modelo de riesgos proporcionales de Cox.
- Para procesar los datos recolectados, se usó el paquete estadístico SPSS para Windows versión 20.0 (Statistical Package for the Social Sciences, SPSS, Inc, Chicago, Illinois, USA).

5.9 MÉTODO BIBLIOGRÁFICO

Previamente a empezar el estudio, se realizó una búsqueda bibliográfica sobre el tema a tratar, utilizando para ello las bases de datos Pubmed y Teseo. La búsqueda estuvo centrada en los términos “carcinoma epidermoide oral” y “PIK3CA”. La recuperación de las distintas referencias encontradas con esta búsqueda se hizo a través del Departamento de Biblioteca del EOXI A Coruña. De esta forma se recopilaron más de 500 referencias, de las que se seleccionaron las más relevantes. Esta búsqueda bibliográfica se ha ido actualizando repetidamente durante el tiempo que ha durado este estudio, incorporando así nuevas referencias a la lista recopilada inicialmente.

Para la enumeración de las referencias bibliográficas y su estructuración se utilizó el estilo Vancouver.

5.10 ASPECTOS ÉTICO-LEGALES

Antes de comenzar con la inclusión de pacientes y la recogida de muestras y datos, el estudio fue aprobado por el Comité de Ética del EOXI A Coruña (anexo 4).

Previamente a la toma de la muestra y con ello a la incorporación al estudio, el paciente fue informado verbalmente y por escrito de la finalidad del estudio y en qué consistía el mismo y su participación. Además, se les dio a firmar dos copias de un consentimiento informado; una de estas copias se le entregó a los pacientes.

Durante la duración del estudio se ha mantenido en todo momento la confidencialidad de los datos de los pacientes, de acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal (483).

5.11 LIMITACIÓN DEL ESTUDIO

- Tamaño muestral: aunque inicialmente el tamaño muestral debería ser suficiente para encontrar relaciones significativas en un estudio de carcinoma epidermoide oral, hay que tener en cuenta que la frecuencia de la variable respuesta (mutación o amplificación de PIK3CA) sólo se produce en aproximadamente en el 20% de los pacientes, por lo que nos limita a la hora de encontrar asociaciones estadísticamente significativas.
- Sesgo de selección: se deriva del método de selección de los pacientes que formaron parte del estudio.
- Sesgo de información: cometido a la hora de medir las variables a estudio, bien porque el paciente nos oculte la información o por un error del observador al recogerla de las historias clínicas.
- Sesgo de confusión: para minimizarlo hemos incluido en nuestro estudio la variable comorbilidad (a través del Índice de Charlson) y también hemos realizado modelos de regresión multivariantes, con el fin de evitar que terceras variables influyan en las variables de interés.
- Otra limitación de nuestro estudio es que en el análisis genómico se analizaron las 3 mutaciones más frecuentes del gen PIK3CA. Se han descrito más mutaciones, que no hemos analizado, por lo que podríamos estar infraestimando la frecuencia de mutación del gen.
- Localización topográfica. En nuestro estudio incluimos lesiones de distintas localizaciones (labio, cavidad oral, orofaringe). No existe acuerdo en la literatura a la hora de agrupar las distintas localizaciones de los cánceres del tracto aéreo-digestivo superior, lo que podría llevar a obtener resultados contradictorios debido a la inclusión de tumores de localizaciones que presentan un comportamiento distinto en cuanto al pronóstico.

6. RESULTADOS



6. RESULTADOS

En este estudio se incluyeron un total de 98 pacientes, de los cuales 31 (31,6%) presentaban una lesión precancerosa y 67 (68,4%) un carcinoma epidermoide. Del 31,6 % correspondiente a lesiones precancerosas 22 (71%) se correspondían con leucoplasias y 9 (29%), con lesiones liquenoides.

Inicialmente presentaremos los resultados del análisis descriptivo. Por un lado haremos el análisis descriptivo del conjunto de todas las muestras (incluyendo lesiones precancerosas y carcinomas epidermoides). Dentro de este subgrupo, no tendremos en cuenta todas las variables recogidas en el estudio, sino sólo aquellas que nos resulten relevantes, dado que en el caso de las lesiones precancerosas existen muchas variables que no procede recoger, como las relacionadas con el tratamiento o el análisis histológico. A continuación haremos el análisis descriptivo del conjunto de lesiones precancerosas, en el que tampoco incluiremos todas las variables, por no ser procedente por los mismos motivos. Finalmente nos centraremos en el análisis descriptivo del conjunto de carcinomas epidermoides, que es lo que más nos interesa en este estudio y en el que tendremos en cuenta todas las variables recogidas.

En cada uno de estos apartados las variables se han organizado de acuerdo con la clasificación descrita en el capítulo de material y métodos y siguiendo el mismo orden, que recordamos a continuación:

- Variables demográficas.
- Variables etiológicas.
- Variables clínicas.
- Variables relacionadas con el tratamiento (sólo para carcinomas epidermoides).
- Variables relacionadas con el estudio histológico (sólo para carcinomas epidermoides).
- Variables relacionadas con el estudio genómico.
- Variables relacionadas con la evolución.

6.1 ESTUDIO DESCRIPTIVO

6.1.1 Del total de la muestra

Como acabamos de decir, en el estudio se incluyeron un total de 98 pacientes, de los cuales 31 (31,6%) presentaban una lesión precancerosa y 67 (68,4%) un carcinoma epidermoide. Del 31,6 % correspondiente a lesiones precancerosas, 22 (71%) se correspondían con leucoplasias y 9 (29%), con lesiones liquenoides.

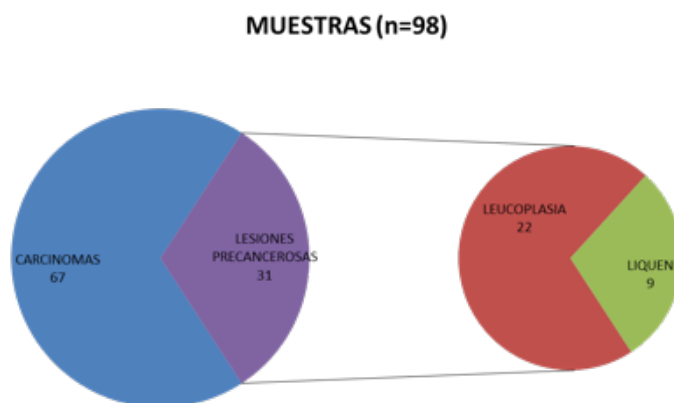


Figura 26. Distribución del tipo de muestras que formaron parte del estudio.

Todas las muestras fueron recogidas entre noviembre del 2009 y enero del 2012. El estudio se dio por finalizado el 31 de diciembre del 2016, por lo que el período mínimo de seguimiento en aquellos pacientes que ni fallecieron durante el mismo ni se perdieron fue de 59 meses.

6.1.1.1 Variables demográficas

Los resultados descriptivos para las variables demográficas podemos verlos resumidos en la tabla 4.

EDAD: El rango de edades varió desde los 33 a los 90 años, con una media de 65,4; una desviación típica de 11,3; y una mediana de 66,5.

SEXO: El 53,1% fueron varones, frente a un 46,9% de mujeres.

Tabla 4. Resultados descriptivos para las variables demográficas para la muestra del total de pacientes.

VARIABLES	n(%)	IC (95 %)	Media±DT	Mediana	Rango
Edad (años)			65.40±13.08	66.50	33-90
Sexo	98				
Mujer	46 (46.9)	36.55-57.33			
Hombre	52 (53.1)	42.67-63.45			

6.1.1.2 Variables etiológicas

Los resultados descriptivos para las variables etiológicas podemos verlos resumidos en la tabla 5.

HÁBITO TABÁQUICO: En el momento del diagnóstico un 43,9% eran no fumadores; un 34,7% eran fumadores; y un 21,4% eran exfumadores.

CONSUMO DE ALCOHOL: En el momento del diagnóstico un 56,1% eran no bebedores; un 33,7% eran bebedores; y un 10,2% eran exbebedores.

Tabla 5. Resultados descriptivos para las variables etiológicas la muestra del total de pacientes.

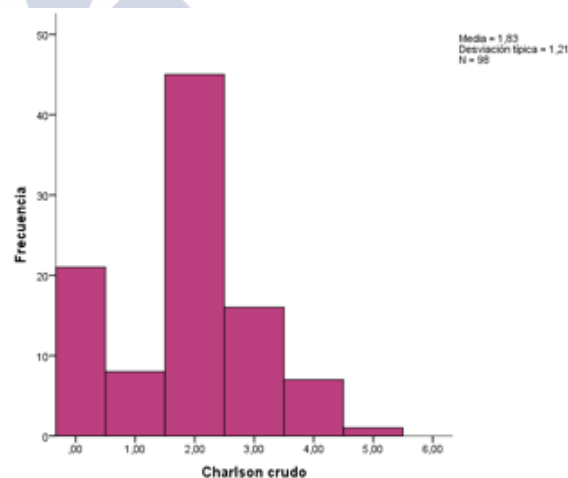
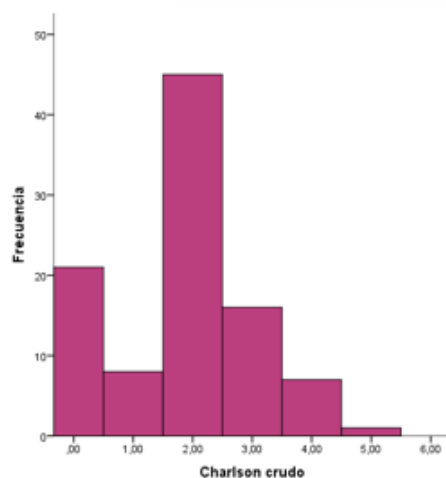
VARIABLES	n(%)	IC (95 %)
Tabaco	98	
No fumadores	43(43,9)	33.54-54.21
Fumadores	34(34.7)	24.76-44.63
Exfumadores	21(21.4)	12.79-30.06
Alcohol	98	
No bebedores	55(56.1)	45.79-66.46
Bebedores	33(33.7)	23.81-43.54
Exbebedores	10(10.2)	3.70-16.71

6.1.1.3 Variables clínicas

Los resultados descriptivos para las variables clínicas podemos verlos resumidas en la tabla 6.

COMORBILIDAD:

- La media del índice de Charlson crudo fue de 1,83.
- La media del índice de Charlson ajustado fue de 3,92.



Figuras 27 y 28. Charlson crudo y Charlson ajustado para el conjunto total de las muestras

LOCALIZACIÓN:

- Lengua móvil: 33,7%.
- Encía: 26,5%.
- Mucosa yugal: 16,3%.
- Suelo de boca: 7,1%.
- Trígono retromolar: 6,1%.
- Orofaringe: 4,1%.
- Base de lengua: 3,1%.
- Labio inferior: 2%.
- Paladar: 1%.

Tabla 6. Resultados descriptivos para las variables clínicas para la muestra del total de pacientes

VARIABLES	n(%)	IC (95 %)	Media±DT	Mediana	Rango
Charlson crudo	98		1.83±1.21	2	0-5
Charlson ajustado	98		3.92±2.03	4	0-9
Localización	98				
Labio inferior	2(2)	0.25-7.18			
Lengua móvil	33(33,7)	23.81-43.54			
Base de lengua	3(3,1)	0.64-8.69			
Suelo de boca	7(7,1)	1.53-12.75			
Mucosa yugal	16(16,3)	8.50-24.15			
Encía	26(26,5)	17.28-35.78			
Trígono	6(6,1)	0.87-11.38			
Paladar	1(1)	0.03-5.55			
Orofaringe	4(4,1)	1.12-10.12			

6.1.1.4 Variables relacionadas con el análisis genómico

Los resultados descriptivos para las variables relacionadas con el estudio genómico podemos verlos resumidos en la tabla 7.

MUTACIÓN PIK3CA:

- En 2 de las muestras no fue posible analizar la presencia de mutación de PIK3CA (2%).
- En 19 muestras (19,8% del total de las analizadas) PIK3CA se encontraba mutado. Dentro de este grupo, la distribución del tipo de mutación de PIK3CA encontrada fue la siguiente:
 - o E545K/D: 57,9%.
 - o E542K: 26.3%.
 - o H1047R: 15,8%.
- En 77 muestras (80,2%) no se encontró mutación de PIK3CA.

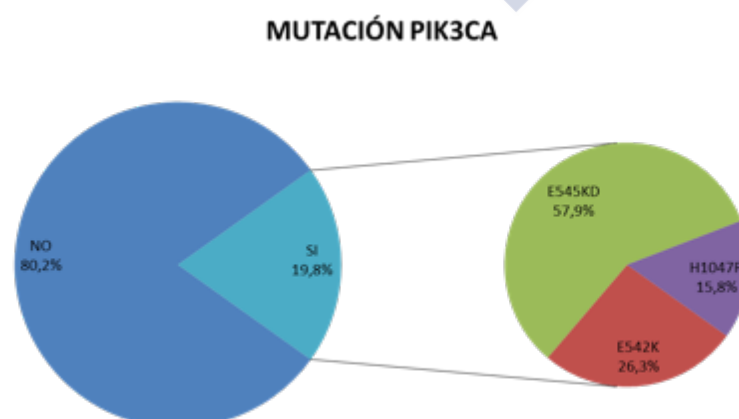


Figura 29. Mutación y tipo de mutación encontrada en el total de muestras

AMPLIFICACIÓN PIK3CA:

- En 10 de las muestras no fue posible analizar la presencia de amplificación (10,2%).
- En 25 muestras (28,4%) se PIK3CA se encontraba amplificado.
- En 63 muestras (71,6%) PIK3CA no se encontraba amplificado.

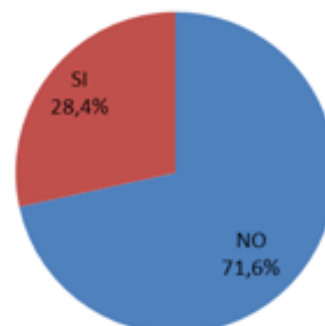
AMPLIFICACIÓN PIK3CA

Figura 30. Amplificación PIK3CA para el conjunto total de las muestras

AMPLIFICACIÓN O MUTACIÓN PIK3CA:

- En 6 de las muestras no fue posible analizar ni la mutación ni la amplificación de PIK3CA (6,1%).
- En 39 (42,4%) muestras se pudo encontrar alguna alteración de PIK3CA (mutación o amplificación).
- En 53 muestras (57,6%) no se encontró ninguna alteración en PIK3CA.

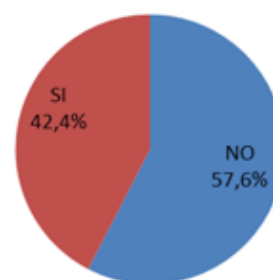
MUTACIÓN O AMPLIFICACIÓN PIK3CA

Figura 31. Alteraciones PIK3CA (mutación o amplificación) en la muestra global

AMPLIFICACIÓN Y MUTACIÓN PIK3CA:

- En 7 de las muestras no fue posible analizar las 2 alteraciones de PIK3CA, mutación y amplificación (7,1%).
- En 5 muestras (5,5%) se encontraron ambas alteraciones de PIK3CA, que se encontraba mutado y amplificado.
- En 86 muestras (94,5%) no se dieron ambas alteraciones de PIK3CA simultáneamente.

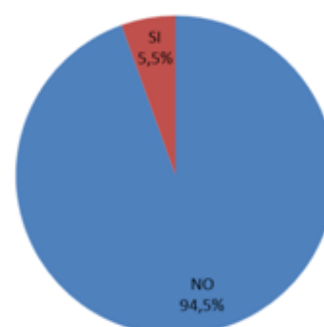
MUTACIÓN Y AMPLIFICACIÓN PIK3CA

Figura 32. Coexistencia de mutación y amplificación en la muestra global

Tabla 7. Resultados descriptivos para las variables relacionadas con el estudio genómico para la muestra del total de pacientes.

VARIABLES	n (%)	IC (95 %)
Mutación	96	
No	77(80.2)	71.72-88.70
Si	19(19.8)	11.30-28.28
Tipo mutación	19	
E542K	5(26.3)	9.15-51.20
E545KD	11(57.9)	33.50-79.75
H1047R	3(15.8)	3.38-39.58
Amplificación	88	
No	63(71.6)	61.60-81.58
Si	25(28.4)	18.42-38.40
Mut o ampl	92	
No	53(57.6)	46.97-68.25
Si	39(42.4)	31.75-53.03
Mut y ampl	91	
No	86(94.5)	87.64-98.19
Si	5(5.5)	1.81-12.36

6.1.1.5 Variables relacionadas con la evolución.

Los resultados descriptivos para las variables relacionadas con la evolución de los pacientes pueden verse resumidos en la tabla 8.

TUMORES MALIGNOS DE LOCALIZACIÓN DISTINTA A CABEZA Y CUELLO: Un 23,5% de los pacientes incluidos en el estudio desarrollaron algún tumor en localizaciones distintas a cabeza y cuello a lo largo de su vida, frente a un 76,5% que no.

TUMORES MALIGNOS DE CABEZA Y CUELLO: Un 76,5% de los pacientes incluidos en el estudio desarrollaron algún tumor en cabeza y cuello a lo largo de su vida. Recordemos que dentro de estos tumores incluimos el carcinoma epidermoide oral objeto de nuestro estudio.

NÚMERO DE TUMORES MALIGNOS: la media de tumores malignos por paciente fue de 1,22, con una mediana de 1 y un rango de 0 a 5.

ÉXITUS: Un 64,9% de los pacientes estaban vivos al final del seguimiento, frente a un 35,1% que fallecieron durante el período de estudio. Hubo un paciente perdido (0,01%), dado que tras diagnosticársele la segunda recidiva se fue a Cuba y no pudimos saber más de él.

MORTALIDAD POR EL CARCINOMA EPIDERMÓIDE ORAL A ESTUDIO: Un 47,1% de todas las muertes se debieron a la progresión del carcinoma epidermoide oral objeto de nuestro estudio.

MORTALIDAD POR CÁNCER: Un 61,76% de todas las muertes se debieron a la progresión de algún cáncer, fuese el carcinoma epidermoide objeto de nuestro estudio u otro tumor maligno en una localización distinta del organismo.

TIEMPO DE SEGUIMIENTO: El tiempo medio de seguimiento fue de 54,25 meses; con una desviación típica de 25,89 y una mediana de 63,67 meses; el rango varió desde 0,17 a 84,93 meses.

Tabla 8. Resultados descriptivos para las variables relacionadas con la evolución para la muestra del total de pacientes.

VARIABLES	n (%)	IC (95 %)	Media \pm DT	Mediana	Rango
Tum no CyC	98				
No	75(76.5)	67.63-85.43			
Si	23(23.5)	14.57-32.37			
Tumores CyC	98				
No	23(23.5)	14.57-32.37			
Si	75(76.5)	67.63-85.43			
Nº tumores	98		1.22 \pm 1.04	1	0-5
Éxitus	97				
No	63(64.9)	54.94-74.96			
Si	34(35.1)	25.04-45.06			
Mortalidad por cáncer	34				
Si	21(61.76)	43.96-79.57			
No	13(38.24)	20.43-56.04			
Mortalidad carc epid oral	34				
Si	16(47.1)	28.82-65.31			
No	18(52.9)	34.69-71.19			
Tiempo de seguimiento					
Bx-último contacto	98		54.25(25.89)	63.67	0.17-84.93

6.1.2 Del grupo: lesiones precancerosas

Se incluyeron un total de 31 lesiones precancerosas en el estudio. De ellas, 22 (71%) se correspondían con leucoplasias y 9 (29%) con lesiones liquenoides.

LESIONES PRECANCEROSAS

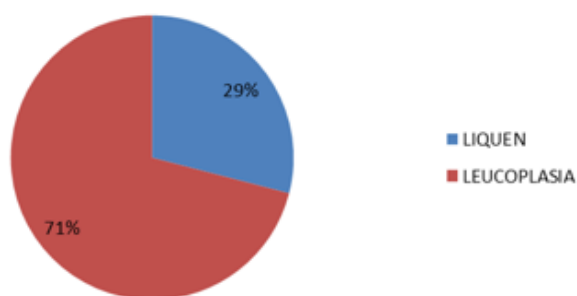


Figura 33. Distribución del tipo de lesiones precancerosas

6.1.2.1 Variables demográficas

Los resultados descriptivos para las variables demográficas en lesiones precancerosas pueden verse resumidos en la tabla 9.

EDAD: La edad de los pacientes con lesiones precancerosas varió desde los 40 a los 86 años, con una media de 60,68 y una desviación típica de 13,66. La mediana fue de 57 años.

SEXO: El 38,7% de los pacientes fueron varones, frente a un 61,3 % de mujeres.

Tabla 9. Resultados descriptivos para las variables demográficas para la muestra de lesiones precancerosas.

VARIABLES	n(%)	IC (95 %)	Media±DT	Mediana	Rango
Edad (años)	31		60.68±13.66	57	40-86
Sexo	31				
Hombre	12 (38.7)	19.95-57.47			
Mujer	19 (61.3)	42.53-80.05			

6.1.2.2 Variables etiológicas

Los resultados descriptivos para las variables etiológicas pueden verse resumidos en la tabla 10.

HÁBITO TABÁQUICO: En el momento del diagnóstico un 41,9% eran no fumadores; un 35,5% eran fumadores; y un 22,6% eran exfumadores.

CONSUMO DE ALCOHOL: En el momento del diagnóstico un 71% eran no bebedores; un 25,8% eran bebedores; y un 3,2% eran exbebedores.

Tabla 10. Resultados descriptivos para las variables etiológicas para la muestra de lesiones precancerosas

VARIABLES	n(%)	IC (95 %)
Tabaco	31	
No fumadores	13(41.9)	22.95-60.92
Fumadores	11(35.5)	17.03-53.94
Exfumadores	7(22.6)	6.25-38.91
Alcohol	31	
No bebedores	22(71)	53.38-88.56
Bebedores	8(25.8)	8.79-42.82
Exbebedores	1(3.2)	0.08-16.70

6.1.2.3 Variables clínicas

Los resultados descriptivos para las variables clínicas en lesiones precancerosas pueden verse resumidos en la tabla 11.

TIPO DE LESIÓN: Un 71% de las lesiones precancerosas se correspondieron con leucoplasias, frente a un 29% de líquenes.

COMORBILIDAD:

- El valor medio del índice de Charlson crudo fue de 0,45.
- El valor medio del índice de Charlson ajustado fue de 2,03.

LOCALIZACIÓN:

- Lengua móvil: 35,5%.
- Mucosa yugal: 38,7%.
- Encía: 19,3%.
- Trígono retromolar: 6,5%.

Tabla 11. Resultados descriptivos para las variables clínicas para la muestra de lesiones precancerosas

VARIABLES	n(%)	IC (95 %)	Media±DT	Mediana	Rango
Charlson crudo	31		0.45±0.85	0	0-4
Charlson axustado	31		2.03±1.72	2	0-5
Tipo lesión	31				
Leucoplasia	22(71)	53.38-88.56			
Liquen	9(29)	11.44-46.62			
Localización	31				
Labio inferior	0				
Lengua móvil	11(35.5)	17.03-53.94			
Base de lengua	0				
Suelo de boca	0				
Mucosa yugal	12(38.7)	19.95-57.47			
Encía	6(19.4)	7.45-37.47			
Trígono	2(6.5)	0.79-21.42			
Paladar	0				
Orofaringe	0				

6.1.2.4 Variables relacionadas con el análisis genómico

Los resultados descriptivos para las variables relacionadas con el estudio genómico en lesiones precancerosas pueden verse resumidos en la tabla 12.

MUTACIÓN PIK3CA:

- En 7 muestras (22,6%) PIK3CA se encontraba mutado. Dentro de este grupo, la distribución del tipo de mutación de PIK3CA encontrada fue la siguiente:

- o E545K/D: 42,8%.
- o E542K: 14,4%.
- o H1047R: 42,85%.

- En 24 muestras (77,4%) no se encontró mutación de PIK3CA.

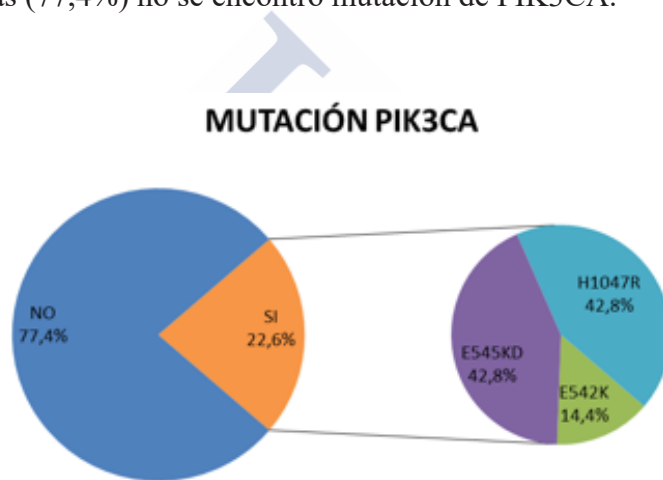


Figura 34. Porcentaje de mutación PIK3CA en el grupo de lesiones precancerosas

AMPLIFICACIÓN PIK3CA:

- En 5 de las muestras no fue posible analizar la presencia de amplificación (16,1%).
- En 5 muestras (19,2%) se PIK3CA se encontraba amplificado.
- En 21 muestras (80,8%) PIK3CA no se encontraba amplificado.

AMPLIFICACIÓN PIK3CA

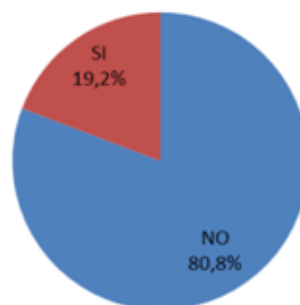


Figura 35. Porcentaje de amplificación PIK3CA en el grupo de lesiones precancerosas

AMPLIFICACIÓN O MUTACIÓN PIK3CA:

- En 3 de las muestras no fue posible analizar ni la mutación ni la amplificación de PIK3CA (9,7%).
- En 11 (39,3%) muestras se pudo encontrar alguna alteración de PIK3CA (mutación o amplificación).
- En 17 muestras (60,7%) no se encontró ninguna alteración en PIK3CA.

MUTACIÓN O AMPLIFICACIÓN PIK3CA

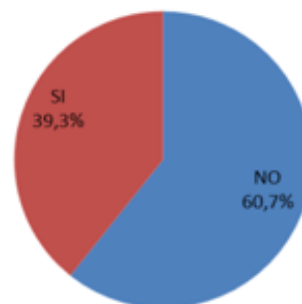


Figura 36. Porcentaje de lesiones precancerosas con alteraciones en el gen PIK3CA (mutación o amplificación)

AMPLIFICACIÓN Y MUTACIÓN PIK3CA:

- En 3 de las muestras no fue posible analizar las 2 alteraciones de PIK3CA, mutación y amplificación (9,7%).
- En 1 muestras (4,6%) se encontraron ambas alteraciones de PIK3CA, que se encontraba mutado y amplificado.
- En 27 muestras (96,4%) no se dieron ambas alteraciones de PIK3CA simultáneamente.

MUTACIÓN Y AMPLIFICACIÓN PIK3CA

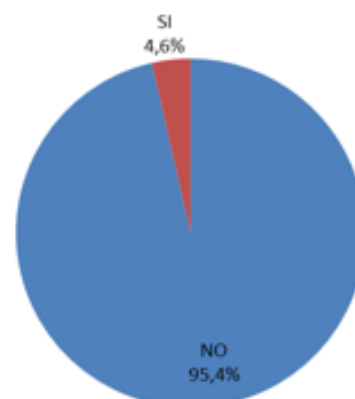


Figura 37. Porcentaje de muestras con mutación y amplificación PIK3CA en el grupo de lesiones precancerosas

Tabla 12. Resultados descriptivos para las variables relacionadas con el estudio genómico para la muestra de lesiones precancerosas

VARIABLES	n (%)	IC (95 %)
Mutación	31	
No	24(77.4)	61.09-93.75
Si	7(22.6)	6.25-38.91
Tipo mutación	7	
E542K	1(14.4)	0.36-57.87
E545KD	3(42.8)	9.90-81.59
H1047R	3(42.8)	9.90-81.59
Amplificación	26	
No	21(80.8)	60.65-93.44
Si	5(19.2)	6.55-39.35
Mut o ampl	28	
No	17(60.7)	40.84-80.59
Si	11(39.3)	19.41-59.16
Mut y ampl	28	
No	27(96.4)	81.65-99.91
Si	1(4.6)	0.09-18.35

6.1.2.5. Variables relacionadas con la evolución

Los resultados descriptivos para las variables relacionadas con la evolución en lesiones precancerosas pueden verse resumidos en la tabla 13.

De todas los pacientes con lesiones precancerosas (31), 5 (16%) desarrollaron un carcinoma epidermoide oral durante el tiempo de seguimiento, en la misma localización o en proximidad a la misma. De estas 5 lesiones precancerosas 3 se correspondían con leucoplasias y 2 con lesiones liquenoides. Sólo una lesión de estas 5, correspondiente a un liquen plano oral, presentaba cambios genéticos en PIK3CA, concretamente la mutación E545K/D.

TUMORES MALIGNOS DE LOCALIZACIÓN DISTINTA A CABEZA Y CUELLO: Un 12,9% de los pacientes incluidos en el estudio desarrollaron algún tumor en localizaciones distintas a cabeza y cuello a lo largo de su vida, frente a un 87,1% que no.

TUMORES MALIGNOS DE CABEZA Y CUELLO: Un 25,8% de los pacientes incluidos en el estudio desarrollaron algún tumor en cabeza y cuello a lo largo de su vida, frente a un 74,2% que no.

NÚMERO DE TUMORES MALIGNOS: la media de tumores malignos por paciente fue de 0,48 con una mediana de 0 y un rango de 0 a 4.

ÉXITUS: Un 90,3% de los pacientes estaban vivos al final del seguimiento, frente a un 9,7% que fallecieron durante el período de estudio.

MORTALIDAD POR CÁNCER: No se registraron muertes por cáncer en el grupo de lesiones precancerosas durante el período de estudio.

TIEMPO DE SEGUIMIENTO: El tiempo medio de seguimiento fue de 71,08 meses; con una desviación típica de 13,39 y una mediana de 73,16 meses; el rango varió desde 29,42 a 84,83 meses.

Tabla 13. Resultados descriptivos para las variables relacionadas con la evolución para la muestra de lesiones precancerosas

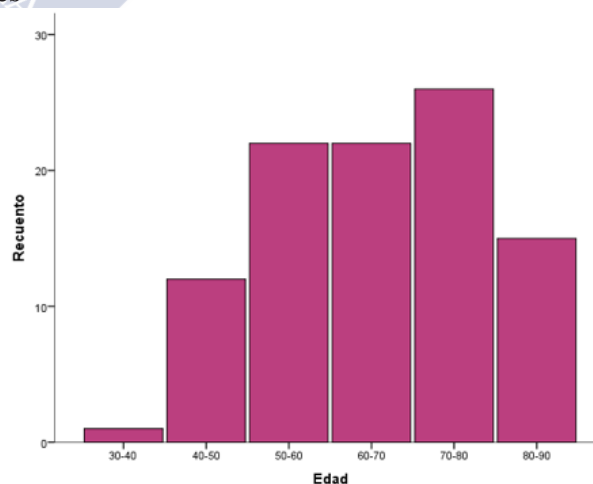
VARIABLES	n (%)	IC (95 %)	Media \pm DT	Mediana	Rango
Tum no CyC	31				
No	27(87.1)	70.17-96.37			
Si	4(12.9)	3.63-29.83			
Tumores CyC	31				
No	23(74.2)	57.18-91.21			
Si	8(25.8)	8.79-42.82			
Nº tumores	31		0.48(0.89)	0	0-4
Éxitus	31				
No	28(90.3)	74.25-97.96			
Si	3(9.7)	2.04-25.75			
Mortalidad por cáncer	3				
Si	0	0-70.76			
No	3(100)	29.24-100			
Tiempo de seguimiento	31				
Bx-último contacto			71.08(13.39)	73.16	29.42-84.83

6.1.3 Del grupo: carcinomas epidermoides

6.1.3.1 Variables demográficas.

Los resultados descriptivos para las variables demográficas en el grupo de carcinomas epidermoides pueden verse resumidos en la tabla 14.

EDAD: El rango de edad en los pacientes con carcinoma epidermoide varió desde los 33 a los 90 años, con una media de edad de 67,58 y una desviación típica de 12,29 y una mediana de 68.



SEXO: El 59,7% de los pacientes fueron varones, frente a un 40,3% de mujeres.

Tabla 14. Resultados descriptivos para las variables demográficas para la muestra de carcinomas epidermoides

VARIABLES	n(%)	IC (95 %)	Media±DT	Mediana	Rango
Edad (años)			67.58±12.29	68	33-90
Sexo	67				
Hombre	40(59.7)	47.21-72.19			
Mujer	27(40.3)	27.81-52.79			

Tabla 15. Resultados descriptivos para las variables etiológicas para la muestra de carcinomas epidermoides

6.1.3.2 Variables etiológicas

Los resultados descriptivos para las variables etiológicas en el grupo de carcinomas epidermoides pueden verse resumidos en la tabla 15.

VARIABLES	n(%)	IC (95 %)
Tabaco	67	
No fumadores	30(44,8)	32.12-67.43
Fumadores	23(34.3)	22.21-46.44
Exfumadores	14(20.9)	10.41-31.38
Alcohol	67	
No bebedores	33(49.3)	36.54-61.97
Bebedores	25(37.3)	24.99-49.64
Exbebedores	9(13.4)	4.52-22.34
Lesiones precancerosas	67	
Si	12(17.9)	7.98-27.83
No	55(82.1)	72.16-92.02

TABACO: Un 44,8% de los pacientes eran no fumadores; un 34,3% fumadores; y un 20,9% exfumadores.

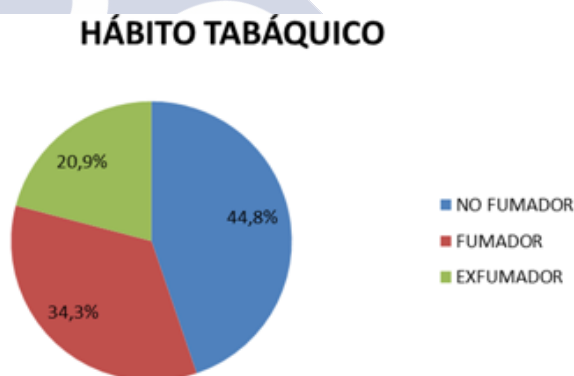


Figura 39. Hábito tabáquico en pacientes con carcinoma epidermoide

ALCOHOL: Un 49,3% eran no fumadores; un 37,3% bebedores; y un 13,4% exbebedores.

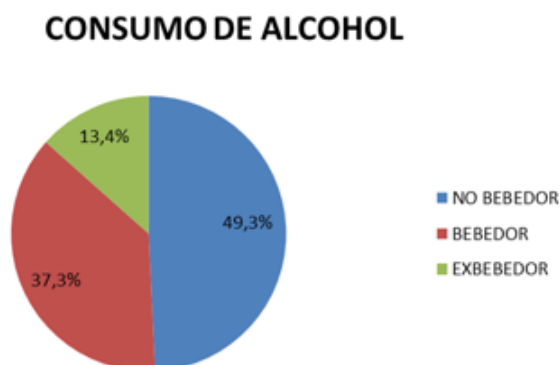


Figura 40. Consumo de alcohol en pacientes con carcinoma epidermoide

LESIONES PRECANCEROSAS: Un 17,9% de los pacientes habían presentado una lesión precancerosa en la zona donde posteriormente se desarrolló el carcinoma epidermoide. De estos, la lesión precancerosa fue una leucoplasia en el 33,3% de los casos; un liquen plano en otro 33,3%; una eritroplasia en el 25%; y una queilitis actínica en el 8,4% restante. Un 82,1% de los pacientes no habían presentado ninguna lesión precursora en la zona donde se desarrolló el carcinoma epidermoide.

6.1.3.3 Variables clínicas

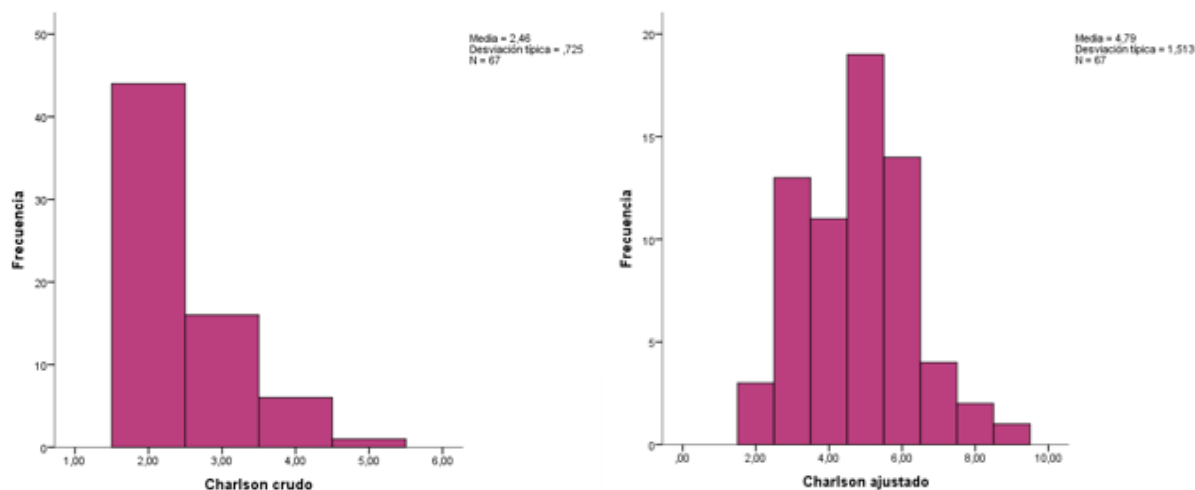
Los resultados descriptivos para las variables clínicas en el grupo de carcinomas epidermoides pueden verse resumidos en la tabla 16.

Tabla 16. Resultados descriptivos para las variables clínicas para la muestra de carcinomas epidermoides

VARIABLES	n(%)	IC (95 %)	Media±DT	Mediana	Rango
Charlson crudo	67		2.46±0.72	2	2-5
Charlson ajustado	67		4.79±1.51	5	2-9
Diámetro máximo (cms)	67		2.74±1.35	2.5	0.5-6
Tiempo de evolución(meses) (me(meses)	67		8.05±15.53	3	0.33-100
Localización	67				
Labio inferior	2(3)	0.36-10.37			
Lengua móvil	22(32.8)	20.84-44.83			
Base de lengua	3(4.5)	0.93-12.53			
Suelo de boca	7(10.4)	2.38-18.52			
Mucosa yugal	4(6)	1.65-14.59			
Encía	20(29.9)	18.15-41.55			
Trígono	4(6)	1.65-14.59			
Paladar	1(1.5)	0.04-8.04			
Orofaringe	4(6)	1.65-14.59			
Aspecto macroscópico	67				
Ulceroso	53(79.1)	68.62-89.59			
No ulceroso	14(20.9)	10.41-31.38			
Afectación ganglionar clínica	67				
Si	19(28.4)	16.82-39.90			
No	48(71.6)	60.10-83.18			
Afectación ósea clínica	67				
No	47(70.1)	58.45-81.85			
Si	20(29.9)	18.15-41.55			
T clínico	67				
1	19(28.4)	16.82-39.90			
2	26(38.8)	26.39-51.22			
3	6(9)	1.37-16.54			
4	16(23.9)	12.92-34.84			
T clínico.rec	67				
Precoz (1-2)	45(67.2)	55.17-79.15			
Avanzado (3-4)	22(32.8)	20.84-44.83			
N clínico	67				
0	48(71.6)	60.10-83.18			
1	8(11.9)	3.43-20.45			
2	11(16.4)	6.80-26.03			
Estadíaje clínico	67				
I	18(26.9)	15.51-38.23			
II	18(26.9)	15.51-38.23			
III	9(13.4)	4.52-22.34			
IVA	22(32.8)	20.84-44.83			
Estadíaje clínico.rec	67				
Precoz (I-II)	36(53.73)	41.05-66.42			
Avanzado (III-IV)	31(46.27)	33.58-58.95			

COMORBILIDAD:

- El valor medio del índice de Charlson crudo fue de 2,46.
- El valor medio del índice de Charlson ajustado fue de 4,79.



TIPO DE LESIÓN: Un 80,6 % fueron lesiones primarias; un 6% recidivas; y un 13,4% segundos tumores primarios.

DIÁMETRO MÁXIMO: El diámetro máximo de las lesiones varió desde medio centímetro hasta 6 centímetros, con una media de 2,74 centímetros, una desviación típica de 1,35 centímetros y una mediana de 2,5 centímetros.

TIEMPO DE EVOLUCIÓN: Con respecto al tiempo de evolución de las lesiones antes de acudir a nuestras consultas, el rango varió desde 0,33 meses hasta 100 meses. La media fue de 15,5 meses, con una desviación típica de 8 meses. La mediana, que en este caso resulta más representativa, fue de 3 meses.

LOCALIZACIÓN: La localización más frecuente resultó la lengua móvil (32,8%), seguida de la encía (29,9%) y el suelo de la boca (10,4%). A las localizaciones mucosa yugal, trigono retromolar y orofaringe le correspondió un 6%. El 4,5% de los carcinomas se localizaron en la base de la lengua, un 3% en el labio inferior y un 1,5% en el paladar.

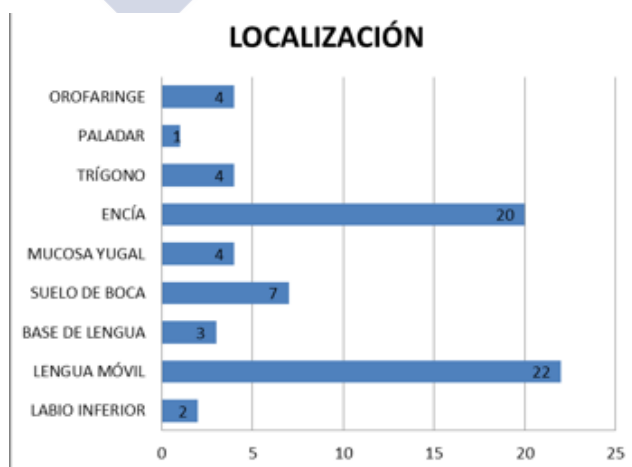


Figura 43. Diagrama de barras para la localización en el grupo carcinomas epidermoides

PATRÓN MACROSCÓPICO:

- Un 79,1% de las lesiones presentaban por lo menos en parte un patrón ulceroso, frente a un 20,9% que no presentaban úlceras.

AFECTACIÓN ÓSEA CLÍNICA: Con la información obtenida de la exploración clínica y de las pruebas de imagen, el 29,9% de los pacientes presentaban afectación ósea, frente a un 70,1% de los pacientes que no la presentaban.

AFECTACIÓN GANGLIONAR CLÍNICA: Con la información obtenida de la exploración clínica y de las pruebas de imagen, el 28,4% de los pacientes presentaban afectación ganglionar cervical, frente a un 71,6% de los pacientes que no la presentaban.

TNM CLÍNICO: Con la información obtenida de la exploración clínica y de las pruebas de imagen, el TNM clínico sería el siguiente:

- El valor de T más frecuente fue el T2 (38,8%), seguido del T1 (28,4%); un 23,9 % fueron T4; el valor de T menos frecuente fue el T3 (9%). Si agrupamos los estadios precoces (T1 y T2), estos representan un 67,2% de los casos, frente a un 32,8% de estadios avanzados (T3 y T4).
- El valor de N más frecuente es el N0 (71,6%), seguido del N2 (16,4%) y del N1 (11,9%).

ESTADIAJE CLÍNICO: El más frecuente fue el estadio IV (32,8%), seguido de los estadios I y II (26,9% cada uno). El estadio III fue el menos frecuente (13,4%). Si agrupamos los estadios precoces (I y II) estos representan un 53,73% de los casos, frente a un 46,27% de estadios avanzados (III y IV).

6.1.3.4 Variables relacionadas con el tratamiento

En el conjunto de variables relacionadas con el tratamiento, excepto en las variables intención y tipo de tratamiento, hubo dos valores perdidos, correspondientes a dos pacientes en los que el tratamiento no incluyó cirugía, por lo que no se pudo recoger esta variable.

Los resultados descriptivos para las variables relacionadas con el tratamiento en el grupo de carcinomas epidermoides pueden verse resumidos en la tabla 17.

INTENCIÓN DEL TRATAMIENTO: Todos nuestros pacientes (100%) fueron tratados inicialmente con una intención curativa.

Tabla 17. Resultados descriptivos para las variables relacionadas con el tratamiento para la muestra de carcinomas epidermoides

VARIABLES	n(%)	IC (95 %)	Media±DT	Mediana	Rango
Tipo de tratamiento	67				
Cirugía	47(70.1)	58.45-81.85			
RT	2(3)	0.36-10.37			
Cirugía+RT	17(25.4)	14.21-36.54			
Cirugía+RT+QT	1(1.5)	0.04-8.04			
Resección tumoral	65				
Tejidos blandos	42(64.6)	52.22-77.01			
Mandibulectomía marginal	9(13.8)	4.68-23.01			
Mandibulectomía segmentaria	4(6.2)	1.70-15.01			
Mandibulectomía+maxilectomía	2(3.1)	0.37-10.68			
Maxilectomía	8(12.3)	3.55-21.06			
Reconstrucción defecto	65				
Cierre borde a borde	35(53.9)	40.96-66.73			
Colgajo local	9(13.8)	4.68-23.01			
Colgajo regional	9(13.8)	4.68-23.01			
Colgajo libre	12(18.5)	8.26-28.66			
Tipo tratamiento cuello	43				
VCSOH	19(44.2)	28.18-60.19			
Vac. funcional - radical	4(9.3)	2.59-22.13			
Bilateral	16(37.2)	21.60-52.82			
BGC	4(9.3)	2.59-22.13			
Vaciamento cervical	65				
No	26(40)	27.32-52.68			
Si	39(60)	47.32—72.68			
Traqueotomía	65				
No	39(60)	47.32—72.68			
Si	26(40)	27.32-52.68			
Traqueotomía	26				
Programada	22(84.6)	65.13-95.64			
Urgente	4(15.4)	4.36-34.87			
Complicaciones PO	65				
No	45(69.2)	57.24-81.22			
Si	20(30.8)	18.78-42.76			
Compl herida/colgajo	65				
No	50(84.4)	65.91-87.93			
Si	10(15.6)	5.84-24.92			
Tiempo de ingreso	65		11.46(13.63)	8	1-71

TIPO DE TRATAMIENTO: La mayor parte de nuestros pacientes (70,1%) fueron tratados con cirugía como única modalidad terapéutica. La siguiente modalidad de tratamiento en frecuencia fue la asociación de cirugía y radioterapia complementaria postoperatoria (25,4%). Tan sólo un 3% fueron tratados con radioterapia exclusiva y un 1,5% con la asociación de cirugía, radioterapia y quimioterapia.

RESECCIÓN TUMORAL:

- En la mayor parte de los casos (64,6%) la resección afectó sólo a los tejidos blandos. El siguiente tipo de resección en orden de frecuencia fue la realización de una mandibulectomía marginal además de la resección de tejidos blandos (13,8%), seguido de la maxilectomía (12,3%), la mandibulectomía segmentaria (6,2%) y, por último, la asociación de maxilectomía y mandibulectomía (3,1%).

RECONSTRUCCIÓN DEL DEFECTO ONCOLÓGICO: El tipo de reconstrucción utilizado más frecuentemente en nuestros pacientes fue el cierre directo borde a borde (o dejando cruento el lecho quirúrgico), sin necesidad de utilizar colgajos (53,9%), seguido de la utilización de colgajos libres microvascularizados (18,5%). Los colgajos locales se utilizaron en un 13,8% de los pacientes, el mismo porcentaje que los regionales.

TRATAMIENTO DEL CUELLO:

- En un 32,8% de los pacientes de todos los que recibieron tratamiento quirúrgico, el cuello no fue tratado (ya sea por ser un segundo primario en el que el cuello ya había sido tratado, por la comorbilidad del paciente con un cuello clínicamente negativo u otras razones).
- Entre los que se trataron, el tipo más frecuente de vaciamiento fue el vaciamiento cervical supraomohioideo (44,2%), seguido del vaciamiento bilateral (37,2%) y, por último, el funcional/radical (9,3%). La técnica del ganglio centinela se realizó en un 9,3% de los pacientes.
- En el 60% de los pacientes intervenidos se realizó vaciamiento cervical, frente a un 40% en el que no se vació el cuello.

REALIZACIÓN DE TRAQUEOTOMÍA:

- Un 60 % de los pacientes que recibieron tratamiento quirúrgico no necesitaron un traqueostoma temporal. Del otro 40% que sí la necesitaron, ésta se realizó de forma programada en el 84,6% de los casos, frente a un 15,4% que precisaron de una traquetomía urgente.

COMPLICACIONES POSTOPERATORIAS:

- Un 30,8% de los pacientes intervenidos presentaron algún tipo de complicación postoperatoria (sangrado, dehiscencia de heridas, éxitus...).
- Un 15,6% sufrieron complicaciones relacionadas con la herida, desde dehiscencia de la misma, infección... hasta fracaso del colgajo utilizado para la reconstrucción del defecto.

TIEMPO DE INGRESO: El tiempo de ingreso de los pacientes intervenidos varió desde 1 hasta 71 días, con una media de 11,46 y una desviación típica de 13,63. La mediana fue de 8 días.

6.1.3.5 Variables relacionadas con el análisis histológico

Los resultados descriptivos para las variables relacionadas con el estudio histológico en el grupo de carcinomas epidermoides pueden verse resumidos en la tabla 18.

En el conjunto de variables relacionadas con el análisis histológico, al igual que en el de variables relacionadas con el tratamiento, hubo dos valores perdidos, correspondientes a dos pacientes en los que el tratamiento no incluyó cirugía, por lo que no se pudo recoger estas variables.

AFECTACIÓN DE MÁRGENES: En un 80% de las piezas de resección los márgenes estaban libres de afectación tumoral.

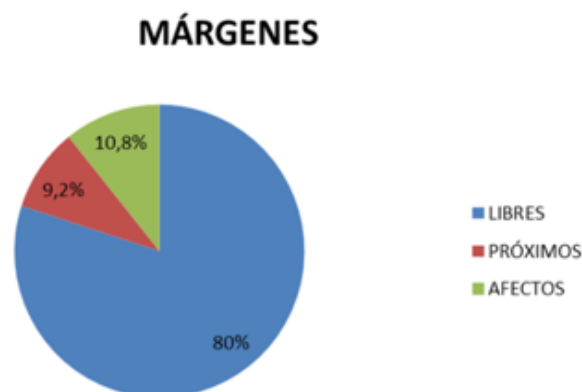


Figura 44. Afectación de los márgenes (carcinomas epidermoides)

En un 9,2% se encontraban próximos al tumor. Y en un 10,8% los márgenes estaban afectados por infiltración tumoral (microscópica).

AFECTACIÓN ÓSEA: En un 75.4% de las piezas tumorales presentaron afectación ósea en análisis histológico, frente a un 24.6% que no la presentaron.

GRADO DE DIFERENCIACIÓN: La mayor parte de los tumores (64.1%) presentaban un grado de diferenciación moderado; un 29.7% fueron bien diferenciados; y un 6,2% fueron pobremente diferenciados. En un 4,5% no se pudo determinar el grado de diferenciación.

GRADO DE DIFERENCIACIÓN

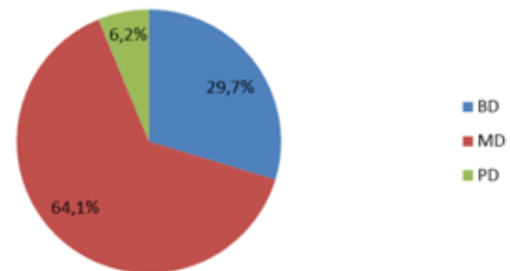
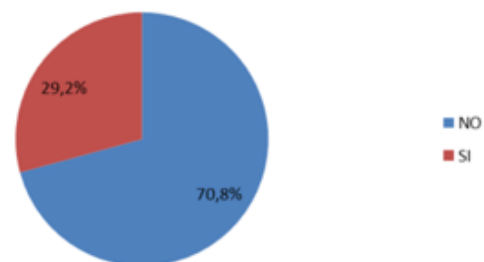


Figura 45. Grado de diferenciación (carcinomas epidermoides)

AFECTACIÓN GANGLIONAR: Un 70,8% de los pacientes no presentaron afectación ganglionar, frente a un 29,2% que presentaron al menos un ganglio afecto. De los pacientes con afectación ganglionar, ésta fue extravascular en un 26,3%, frente a un 73,7% que no la presentaron.

AFECTACIÓN GANGLIONAR



Figuras 46. Afectación ganglionar (carcinomas epidermoides)

Tabla 18. Resultados descriptivos para las variables relacionadas con el estudio histológico para la muestra de carcinomas epidermoides

VARIABLES	n (%)	IC (95 %)
Márgenes	65	
Libres	52 (80)	69.51-90.49
Próximos	6(9.2)	1.42-17.04
Afectos	7(10.8)	2.46-19.07
Afectación ósea	65	
No	49(75.4)	64.14-86.63
Si	16(24.6)	13.37-35.86
Grado de diferenciación	64	
BD	19 (29.7)	17.71-41.66
MD	41(64.1)	51.53-76.60
PD	4(6.2)	1.73-15.24
Afectación ganglionar	65	
No	46(70.8)	58.94-82.59
Si	19(29.2)	17.40-41.06
Invasión extracapsular	65	
No	60(92.3)	82.95-97.45
Si	5(7.7)	2.54-17.05
Invasión perineural	65	
No	59(90.8)	82.96-98.57
Si	6(9.2)	1.42-17.04
Invasión perivascular	65	
No	58(89.2)	80.93-97.54
Si	7(10.8)	2.46-19.07
T	67	
1	20(29.8)	18.15-41.55
2	27(40.3)	27.81-52.79
3	4(6)	1.65-14.58
4	16(23.9)	12.92-34.84
T.rec	67	
Precoz (T1-T2)	47(70.1)	58.45-81.85
Avanzado (T3-T4)	20(29.9)	29.85-41.55
N	67	
0	46(70.2)	56.80-80.51
1	7(10.4)	2.38-18.52
2	13(19.4)	9.10-29.62
pEstadiaje	67	
I	17(25.4)	14.21-36.54
II	17(25.4)	14.21-36.54
III	9(13.4)	4.52-22.34
IV	24(35.8)	23.59-48.05

INVASIÓN PERINEURAL: Un 90,8% de los tumores presentaron afectación perineural, frente a un 9,8% que no la presentaron.

INVASIÓN PERIVASCULAR: Un 89,2% de los tumores presentaron afectación perivascular, frente a un 10,8% que no la presentaron.

TNM: En los casos en los que no se pudo obtener el pTNM (por no haber recibido tratamiento quirúrgico) se utilizó el cTNM. El TNM más frecuente fue el T1N0 (24%) y el T2N0 (24%), seguidos del T4N0 (14,9%).

- El 40% de los tumores fueron T2, el valor de T más frecuente seguido del T1 (29,9%). Un 23,9% fueron T4 y el 6% restantes fueron T3.
- Si agrupamos los T precoces (T1 y T2) por un lado y por otro los T avanzados (T3 y T4), vemos como más de dos terceras partes de los tumores son T precoces (70,1%), frente a un 29,9% de T avanzados.

T(TNM)

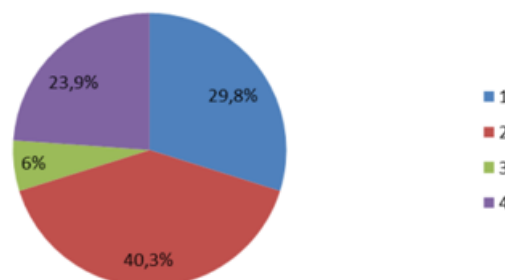


Figura 47. Valor T (carcinomas epidermoides)

N(TNM)

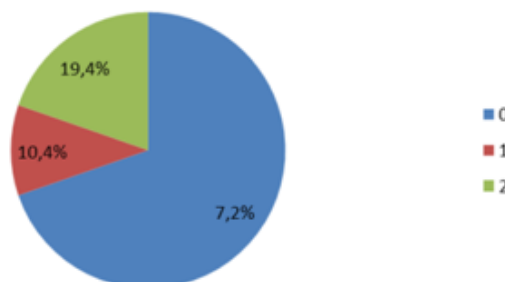


Figura 48. Valor N (carcinomas epidermoides)

ESTADIAJE TUMORAL

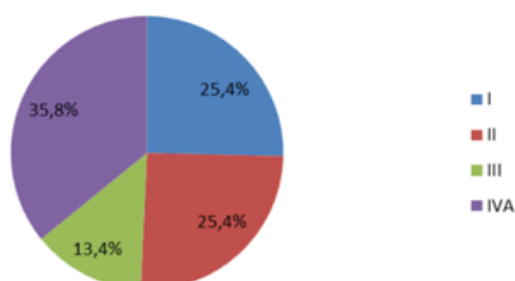


Figura 49. Estadaje tumoral (carcinomas epidermoides)

ESTADIAJE: El estadio más frecuente resultó ser el estadio IV (35,8%), seguido de los estadios I y II (25,4% cada uno). El estadio III representó un 13,4%.

6.1.3.6 Variables relacionadas con el análisis genómico

Los resultados descriptivos para las variables relacionadas con el estudio genómico en el grupo de carcinomas epidermoides pueden verse resumidos en la tabla 19.

MUTACIÓN PIK3CA:

- En 2 de las muestras no fue posible analizar la presencia de mutación de PIK3CA (3%).
- En 12 muestras (18,5%) PIK3CA se encontraba mutado. Dentro de este grupo, la distribución del tipo de mutación de PIK3CA encontrada fue la siguiente:

- o E545K/D: 66.66%.
- o E542K: 33,33%.
- o No se encontró ninguna mutación H104R en carcinomas epidermoides.

MUTACIÓN PIK3CA

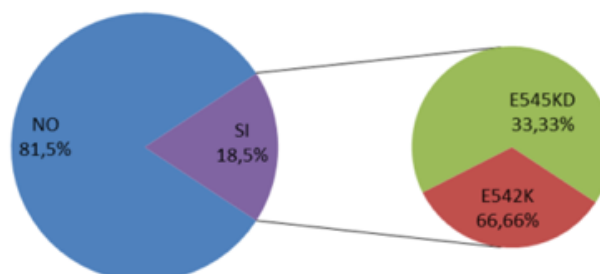


Figura 50. Porcentaje de mutaciones PIK3CA en carcinomas epidermoides

- En 53 muestras (81.5%) no se encontró mutación de PIK3CA.

AMPLIFICACIÓN PIK3CA:

- En 5 de las muestras no fue posible analizar la presencia de amplificación (7,5%).
- En 20 muestras (32.3%) se PIK3CA se encontraba amplificado.
- En 42 muestras (67,7%) PIK3CA no se encontraba amplificado.

AMPLIFICACIÓN PIK3CA

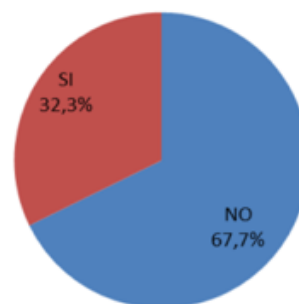


Figura 51. Porcentaje de amplificación PIK3CA en carcinomas epidermoides

Tabla 19. Resultados descriptivos para las variables relacionadas con el estudio genómico para la muestra de carcinomas epidermoides.

VARIABLES	n (%)	IC (95 %)
Mutación	65	
No	53(81.5)	71.34-91.74
Si	12(18.5)	8.26-28.66
Tipo mutación	12	
E542K	4(33.33)	9.92-65.11
E545KD	8(66.66)	34.89-90.07
Amplificación	62	
No	42(67.7)	55.30-80.18
Si	20(32.3)	19.82-44.70
Mut o ampl	64	
No	36(56.3)	43.31-69.18
Si	28(43.7)	30.81-56.68
Mut y ampl	63	
No	59(93.5)	84.53-98.24
Si	4(6.5)	1.76-15.46

AMPLIFICACIÓN O MUTACIÓN PIK3CA:

- En 3 de las muestras no fue posible analizar ni la mutación ni la amplificación de PIK3CA (4,5%).
- En 28 (43,7%) muestras se pudo encontrar alguna alteración de PIK3CA (mutación o amplificación).
- En 36 muestras (56,3%) no se encontró ninguna alteración en PIK3CA.

MUTACIÓN O AMPLIFICACIÓN PIK3CA

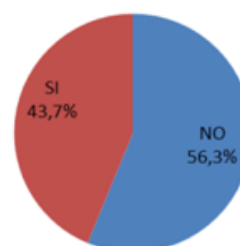


Figura 52. Porcentaje de carcinomas epidermoides con alteraciones PIK3CA (mutación o amplificación)

AMPLIFICACIÓN Y MUTACIÓN PIK3CA:

- En 4 de las muestras no fue posible analizar las 2 alteraciones de PIK3CA, mutación y amplificación (6%).
- En 4 muestras (6,5%) se encontraron ambas alteraciones de PIK3CA, que se encontraba mutado y amplificado.
- En 59 muestras (93,5%) no se dieron ambas alteraciones de PIK3CA simultáneamente.

MUTACIÓN Y AMPLIFICACIÓN PIK3CA

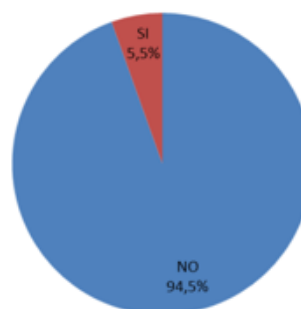


Figura 53. Coexistencia de mutación y amplificación en carcinomas epidermoides

6.1.3.7. Variables relacionadas con la evolución

Los resultados descriptivos para las variables relacionadas con la evolución en el grupo de carcinomas epidermoides pueden verse resumidos en la tabla 20.

RECIDIVA:

- De todos los pacientes con carcinoma epidermoide, un 32,8% presentaron recidiva tumoral durante el período de estudio. El 67,2% de los pacientes no presentaron recidiva durante el tiempo que duró el estudio.
- 4 pacientes (6%) sufrieron persistencia tumoral tras el tratamiento inicial. 3 pacientes (4,5%) desarrollaron un segundo tumor primario de vías respiratorias superiores.

TIEMPO HASTA LA RECIDIVA: Para los pacientes que presentaron una recidiva tumoral, el rango de aparición varió desde los 3,83 a los 63,40 meses. El tiempo medio desde el inicio de tratamiento hasta la recidiva fue de 16,55 meses, con una desviación típica de 14,25 meses; la mediana fue de 12,53 meses.

TIPO DE RECIDIVA: De todos los pacientes que recidivaron, el 59,1% fueron recidivas locales; el 22,7% regionales; un 13,6% fueron recidivas loco-regionales (en la zona del tumor primario y en los ganglios cervicales); y hubo un paciente (4,5%) que presentó metástasis a distancia, concretamente una metástasis cutánea en la piel de la pirámide nasal.

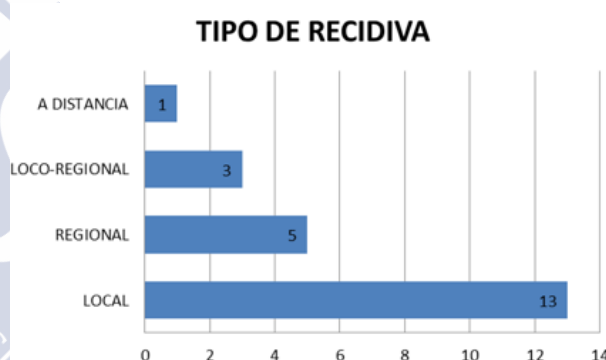


Figura 54. Tipo de recidiva tumoral (carcinomas epidermoides)

TUMORES MALIGNOS DE LOCALIZACIÓN DISTINTA A CABEZA Y CUELLO: Un 28,4% de los pacientes incluidos en el estudio desarrollaron algún tumor en localizaciones distintas a cabeza y cuello a lo largo de su vida, frente a un 71,6% que no.

NÚMERO DE TUMORES MALIGNOS: la media de tumores malignos por paciente fue de 1,57 con una mediana de 1 y un rango de 1 a 5.

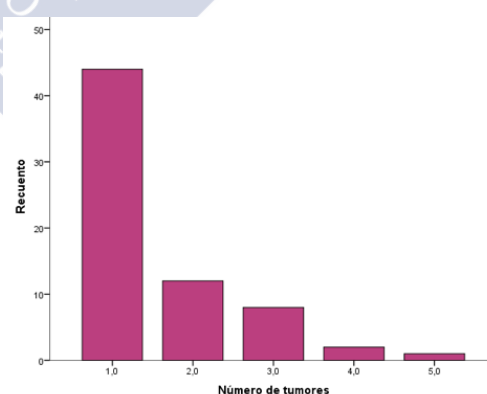


Figura 55. Número de tumores en los pacientes con carcinoma epidermoide

ÉXITUS: Un 53% de los pacientes estaban vivos al final del seguimiento, frente a un 47% que fallecieron durante el período de estudio.

MORTALIDAD POR EL CARCINOMA EPIDERMÓIDE ORAL A ESTUDIO: El 51,6% de las muertes registradas se debieron a la progresión del carcinoma epidermoide oral objeto del estudio genómico, frente a un 48,4% de muertes debidas a causas médicas o tumores malignos distintos al objeto de nuestro estudio.

MORTALIDAD POR CÁNCER: El 67,7% de las muertes que se registraron se debieron a la progresión del carcinoma epidermoide oral objeto del estudio u otro tumor maligno en una localización distinta, frente a un 32,3% de muertes por causas médicas.

TIEMPO DE SEGUIMIENTO:

- Desde la biopsia a la fecha del último contacto: el tiempo medio de seguimiento fue de 46,5 meses, con una mediana de 59 meses.
- Desde el inicio del tratamiento a la fecha del último contacto: el tiempo medio de seguimiento fue de 46 meses, con una mediana de 59 meses.

Tabla 20. Resultados descriptivos para las variables relacionadas con la evolución para la muestra de carcinomas epidermoides.

VARIABLES	n (%)	IC (95 %)	Media ±DT	Mediana	Rango
Recidiva	67				
No	45(67.2)	55.17-79.15			
Si	22(32.8)	20.84-44.83			
Recidiva/persist/2° prim	67				
No recidiva	38(56.7)	44.11-69.33			
Si	22(32.8)	20.84-44.83			
Persistencia	4(6)	1.65-14.59			
Segundo primario	3(4.5)	0.93-12.53			
T hasta la recidiva	22		16.55(14.25)	12.53	3.83-63.40
Tipo recidiva	22				
Local	13(59.1)	36.27-81.91			
Regional	5(22.7)	7.82-45.37			
Loco-regional	3(13.6)	2.91-34.91			
A distancia	1(4.5)	0.11-22.84			
Tum no CyC	67				
No	48(71.6)	60.10-83.18			
Si	19(28.4)	16.82-39.90			
N° tumores	67		1.57(0.92)	1	1-5
Exitus	66				
No	35(53.0)	40.23-65.83			
Si	31(47.0)	34.17-59.77			
Muerte por carc epid oral	31				
Si	16(51.6)	32.41-70.82			
No	15(48.4)	29.18-67.59			
Muerte por cáncer	31				
Si	21(67.7)	46.67-85.81			
No	10(32.3)	14.19-50.33			
Tiempo de seguimiento					
Bx-último contacto	67		46.47(26.63)	59.04	0.17-84.93
Inicio tto-último contacto	67		46.17(26.50)	59.04	0.17-84.30

6.2 ANÁLISIS BIVARIANTE: ASOCIACIÓN ENTRE VARIABLES

6.2.1 Comparación entre presencia y ausencia de mutación

6.2.1.1 Para la muestra global

6.2.1.1.1 Variables demográficas

A pesar de que el porcentaje de mutaciones fue más alto en hombres que en mujeres, estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas (tabla 21).

Tampoco hubo asociación entre la presencia de mutación y la edad.

Tabla 21. Asociación entre variables demográficas y mutación (muestra global)

	MUTACIÓN		P	OR
	Si(n=19)	No(n=77)		
VARIABLES DEMOGRÁFICAS	Media ± DT	Media ± DT		
Edad (años)	65.79±16.24	65.27±12.47	0.88	1.00(0.96-1.04)
Sexo			0.14	
Mujer	6(13.3)	39(86.7)		1
Hombre	13(25.5)	38(74.5)		2.22(0.77-6.45)

6.2.1.1.2 Variables etiológicas

A pesar de que la frecuencia de mutaciones fue mayor en no fumadores que en fumadores, estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas. Lo mismo ocurre con el consumo de alcohol, las mutaciones fueron más frecuentes en no bebedores que en bebedores, pero la diferencia no fue significativa (tabla 22).

Tabla 22. Asociación entre variables etiológicas y mutación (muestra global)

	MUTACIÓN		P	OR
	Si(n=19)	No(n=77)		
VARIABLES ETIOLÓGICAS	Media ± DT	Media ± DT		
Tabaco2			0.24	
No fumador	11(25)	33(75)		1
Fumador	8(15.4)	44(84.6)		0.54(0.20-1.51)
Alcohol2			0.56	
No bebedor	12(21.8)	43(78.2)		1
Bebedor	7(17.1)	34(82.9)		0.74(0.26-2.08)

6.2.1.1.3 Variables clínicas

No se encontraron asociaciones significativas entre las variables clínicas y la presencia de mutación. La frecuencia de mutaciones fue mayor en lesiones precancerosas que en carcinomas epidermoides. La localización anatómica con mayor frecuencia de mutaciones fue la mucosa yugal, seguida la encía, orofaringe, trigono y lengua móvil. No se encontraron mutaciones en las localizaciones labio inferior, base de lengua, suelo de boca o paladar. En conjunto, el porcentaje de mutaciones fue mayor en cavidad oral que en orofaringe, aunque esta diferencia no resultó significativa.

Tabla 23. Asociación entre variables clínicas y mutación (muestra global)

	MUTACIÓN		P	OR
	Si(n=19)	No(n=77)		
VARIABLES CLÍNICAS	Media ± DT	Media ± DT		
Charlson crudo	1.89±1.24	1.81±1.23	0.75	1.06(0.70-1.61)
Charlson ajustado	4.06±1.99	3.88±2.08	0.72	1.04(0.81-1.33)
Tipo lesión			0.64	
Precáncer	7(22.6)	24(77.4)		1
Cáncer	12(18.5)	53(81.5)		0.78(0.27-2.22)
Localización			-	
Labio inferior	0	2(100)		
Lengua móvil	5(16.1)	26(83.9)		
Base de lengua	0	3(100)		
Suelo de boca	0	7(9.1)		
Mucosa yugal	5(31.2)	11(68.8)		
Encía	7(26.9)	19(73.1)		
Trigono	1(16.7)	5(83.3)		
Paladar	0	1(100)		
Orofaringe	1(25)	3(75)		
Localización.rec			0.99	
Orofaringe	1(14.3)	6(85.7)		1
Cavidad oral	18(20.2)	71(79.8)		1.52(0.17-13.45)

6.2.1.1.4 Variables relacionadas con el estudio genómico

No se encontró asociación entre amplificación y mutación de PIK3CA.

Tabla 24. Asociación entre variables relacionadas con el estudio genómico y mutación (muestra global)

	MUTACIÓN		P	OR
	Si(n=19)	No(n=77)		
VARIABLES GENÓMICA	Media ± DT	Media ± DT		
Amplificación			0.77	
No	11(17.5)	52(72.5)		1
Si	5(20)	20(80)		1.18(0.36-3.83)

6.2.1.1.5 Variables relacionadas con la evolución

- Los pacientes con mutación de PIK3CA desarrollaron más tumores en localizaciones distintas a cabeza y cuello que los pacientes sin mutación. En cambio, el desarrollo de tumores de cabeza y cuello fue ligeramente más frecuente en pacientes sin mutación. Estas diferencias no fueron significativas.
- El porcentaje de éxitus fue mayor entre los pacientes con mutación que en aquellos sin mutación, rozando esta diferencia la significación estadística ($p=0.09$).
- Tanto la mortalidad por carcinoma epidermoide oral como la mortalidad por cáncer fueron mayores en pacientes con mutación, aunque estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas.
- El tiempo de seguimiento fue menor en pacientes con mutación, sin resultar estadísticamente significativo.

Tabla 25. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y mutación (muestra global)

	MUTACIÓN		P	OR
	Si(n=19)	No(n=77)		
VARIABLES EVOLUCIÓN	Media \pm DT	Media \pm DT		
Tum no CyC			0.38	
No	13(68.4)	60(77.9)		1
Si	6(31.6)	17(22.1)		1.63(0.54-4.93)
Tumores CyC			0.77	
No	5(26.3)	18(23.4)		1
Si	14(73.7)	59(76.6)		0.85(0.26-2.70)
Nº tumores	1.21 \pm 0.92	1.23 \pm 1.09	0.93	0.98(0.60-1.59)
Éxitus			0.08	
No	9(47.4)	52(68.4)		1
Si	10(52.6)	24(31.6)		2.41(0.87-6.69)
Mortalidad por carc epid oral			0.30	
No	14(73.7)	65(85.5)		1
Si	5(26.3)	11(14.5)		2.11(0.63-7.04)
Mortalidad por cáncer			0.76	
No	14(73.7)	60(78.9)		1
Si	5(26.3)	16(21.1)		1.34(0.42-4.27)
Tiempo de seguimiento				
Desde bx a último contacto	48.08 \pm 24.61	55.32 \pm 26.01	0.365	0.99(0.97-1.01)

6.2.1.1.6 Análisis multivariante

Puesto que en el análisis bivalente ninguna de las variables estudiadas mostró una asociación estadísticamente significativa con la presencia de mutación de PIK3CA, ajustamos un modelo de regresión multivariante incluyendo aquellas variables sociodemográficas con relevancia clínica como son la edad, el sexo y los hábitos tóxicos (tabaco y alcohol) (tabla 26). En dicho modelo se objetiva que las variables que presentan asociación con la mutación son el sexo y el hábito tabáquico. El sexo masculino multiplica por 6,76 el riesgo de sufrir mutación de PIK3CA (IC(95%)=1,61-28,32). En cuanto al tabaco, actúa como factor protector, disminuyendo el riesgo de sufrir mutación de PIK3CA. Esto podría ser porque en nuestro tamaño muestral es pequeño y hemos incluido un bajo porcentaje de de pacientes fumadores. Otra explicación sería que hemos incluido los exfumadores de más de diez años en el grupo de no fumadores; generalmente los pacientes que tienen enfermedades graves relacionadas con el hábito tabáquico tienden a dejar de fumar; incluso aquellos que desarrollan lesiones precancerosas tienden a dejar el tabaco por miedo al cáncer oral; en nuestra muestra es muy frecuente que los pacientes hayan padecido otros tumores malignos, tanto del tracto aéreo-digestivo superior (en los que el tabaco actúa como factor de riesgo conocido), como de otras localizaciones, por lo que hay muchos exfumadores. Por tanto, consideraremos la variable tabaco como un factor confusor. Por ello, realizamos de nuevo el modelo multivariante sin incluir el hábito tabáquico (tabla 27). En este nuevo modelo se observa como al eliminar el efecto confusor del tabaco ninguna de las variables seleccionadas modifica la probabilidad de mutación, encontrándose el sexo en el límite de la significación ($p=0.05$), siendo el sexo masculino el de mayor riesgo (OR=6,76;IC(95%)=1,61-28,3).

Tabla 26. Modelo 1 de regresión multivariante para el riesgo de mutación de PIK3CA

	B	E.T.	Sig.	OR	IC (95 %) para OR	
Edad	-,015	,023	,501	,985	,942	1,030
Sexo (ref: mujer)	1,911	,731	,009	6,759	1,613	28,319
Tabaco Si (ref: no)	-1,697	,794	,032	,183	,039	,868
Alcohol Si (ref: no)	-,357	,667	,592	,700	,189	2,584
constante	-,509	1,663	,759	,601		

Tabla 27. Modelo 2 de regresión multivariante para el riesgo de mutación de PIK3CA

	B	E.T.	Sig.	OR	IC (95 %) para OR	
Edad	,005	,020	,813	1,005	,966	1,045
Sexo (ref: mujer)	1,212	,618	,050	3,359	1,001	11,276
Alcohol Si (ref: no)	-,845	,604	,161	,430	,132	1,402
constante	-2,077	1,439	,149	,125		

6.2.1.2 Para lesiones precancerosas

6.2.1.2.1 Variables demográficas

Al centrarnos en los casos de lesiones precancerosas objetivamos que:

- A pesar de que la edad media fue 3 años y medio mayor en mutados que en no mutados, esta diferencia no fue estadísticamente significativa.
- La frecuencia de mutaciones en varones duplicó a la frecuencia en mujeres (OR=2.67), aunque esta diferencia tampoco resultó significativa.

Tabla 28. Asociación entre variables demográficas y mutación (lesiones precancerosas)

	MUTACIÓN		P	OR
	Sí(n=7)	No(n=24)		
VARIABLES DEMOGRÁFICAS	Media ± DT	Media ± DT		
Edad (años)	63.43±15.26	59.88±13.40	0.67	1.02(0.96-1.09)
Sexo			0.38	
Mujer	3(15.8)	16(74.2)		1
Hombre	4(33.3)	8(66.7)		2.67(0.48-14.90)

6.2.1.2.2 Variables etiológicas

- No se encontraron asociaciones entre la presencia de mutación y el hábito tabáquico o el consumo de alcohol.

Tabla 29. Asociación entre variables etiológicas y mutación (lesiones precancerosas)

	MUTACIÓN		P	OR
	Sí(n=7)	No(n=24)		
VARIABLES ETIOLÓGICAS	Media ± DT	Media ± DT		
Tabaco2			0.99	
No fumador	3(21.4)	11(78.6)		1
Fumador	4(23.6)	13(76.4)		1.13(0.21-6.17)
Alcohol2			0.99	
No bebedor	5(22.7)	17(77.3)		1
Bebedor	2(22.2)	7(77.8)		0.97(0.15-6.25)

6.2.1.2.3 Variables clínicas

- Tanto el Charlson crudo como el ajustado resultaron mayores en pacientes con mutación que en no mutados, pero estas diferencias no alcanzaron la significación estadística.
- La frecuencia más alta de mutaciones se dio en lengua móvil, seguida de la mucosa yugal y la encía. No hubo asociación entre mutación y localización de la lesión.

Tabla 30. Asociación entre variables clínicas y mutación (lesiones precancerosas)

	MUTACIÓN		P	OR
	Sí(n=7)	No(n=24)		
VARIABLES CLÍNICAS	Media \pm DT	Media \pm DT		
Charlson crudo	1,00 \pm 1.53	0.29 \pm 0.46	0.29	2.51(0.81-7.79)
Charlson ajustado	2.86 \pm 2.04	1.79 \pm 1.59	0.18	1.46(0.86-2.47)
Localización			-	
Labio inferior	0	0		
Lengua móvil	3(27.3)	8(72.7)		
Base de lengua	0	0		
Suelo de boca	0	0		
Mucosa yugal	3(25)	9(75)		
Encía	1(16.7)	5(83.3)		
Trígono	0	2(100)		
Paladar	0	0		
Orofaringe	0	0		
Localización.rec				
Orofaringe	0	0	-	
Cavidad oral	7(22.6)	24(77.4)		

6.2.1.2.4 Variables relacionadas con el estudio genómico

Tampoco se encontró asociación entre mutación y amplificación en lesiones precancerosas.

Tabla 31. Asociación entre variables relacionadas con el estudio genómico y mutación (lesiones precancerosas)

	MUTACIÓN		P	OR
	Sí(n=7)	No(n=24)		
VARIABLES GENÓMICA	Media \pm DT	Media \pm DT		
Amplificación			0.99	
No	4(19)	17(81)		1
Sí	1(20)	4(80)		1.06(0.09-12.28)

6.2.1.2.5 Variables relacionadas con la evolución

- En todas las variables relacionadas con la evolución los datos fueron peores para el grupo de pacientes con mutación. Presentaron más tumores de cabeza y cuello, más tumores en distintas localizaciones a cabeza y cuello, mayor porcentaje de éxitus y menor tiempo de seguimiento. Sin embargo, ninguna de estas diferencias alcanzó la significación estadística. No se dio ninguna muerte por cáncer en los pacientes con lesiones precancerosas durante el período que duró este estudio.

Tabla 32. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y mutación (lesiones precancerosas)

	MUTACIÓN		P	OR
	Sí(n=7)	No(n=24)		
VARIABLES EVOLUCIÓN	Media ± DT	Media ± DT		
Tum no CyC			0.21	
No	5(71.4)	22(91.7)		1
Si	2(28.6)	2(8.3)		4.40(0.49-39.21)
Tumores CyC			0.99	
No	5(71.4)	18(75)		1
Si	2(28.6)	6(25)		1.20(0.18-7.88)
Nº tumores	0.57±0.79	0.46±0.93	0.51	1.15(0.47-2.82)
Éxitus			0.12	
No	5(71.4)	23(95.8)		1
Si	2(28.6)	1(4.2)		9.20(0.69-122.38)
Mortalidad por cáncer				
No	7(100)	24(100)	-	
Si	0	0		
Tiempo de seguimiento				
Bx-último contacto	63.07±22.94	73.41±8.45	0.508	0.95(0.89-1.01)

6.2.1.2.6 Análisis multivariante

Puesto que en el análisis bivariante ninguna de las variables estudiadas mostró una asociación estadísticamente significativa con la presencia de mutación de PIK3CA, de nuevo ajustamos un modelo de regresión multivariante incluyendo las variables edad, sexo y alcohol(eliminamos del modelo la variable tabaco por considerarla un factor confusor) (tabla 33). En dicho modelo ninguna de las variables presenta asociación significativa con la presencia de mutación.

Tabla 33. Modelo de regresión multivariante para el riesgo de mutación en lesiones precancerosas

	B	E.T.	Sig.	OR	IC (95 %) para OR	
Edad	,033	,035	,357	1,033	,964	1,107
Sexo (ref: mujer)	1,642	1,139	,149	5,167	,554	48,174
Alcohol Si (ref: no)	-,970	1,186	,413	,379	,037	3,873
Constante	-3,707	2,447	,130	,025		

6.2.1.3 Para carcinomas epidermoides

6.2.1.3.1 Variables demográficas

- No hubo diferencias en cuanto a la edad entre mutados y no mutados.
- De nuevo la frecuencia de mutaciones fue mayor en hombres que en mujeres (OR=2.30), sin llegar a la significación estadística.

Tabla 34. Asociación entre variables demográficas y mutación (carcinomas epidermoides)

	MUTACIÓN		P	OR
	Sí (n=12)	No(n=53)		
VARIABLES DEMOGRÁFICAS	Media ± DT	Media ± DT		
Edad (años)	67.17± 17.29	67.72±11.33	0.83	0.99(0.95-1.05)
Sexo			0.33	
Mujer	3 (11.5)	23 (88.5)		1
Hombre	9 (23.1)	30 (76.9)		2.30(0.56-9.47)

6.2.1.3.2 Variables etiológicas

No hubo asociación significativa con ninguna de las variables etiológicas tampoco en el grupo de carcinomas epidermoides, a pesar de que la mutación sigue siendo más frecuente en no fumadores y en no bebedores, también en el grupo de carcinomas epidermoides. La mutación también fue más frecuente en aquellos carcinomas precedidos por una lesión precancerosa, sin ser significativo.

Tabla 35. Asociación entre variables etiológicas y mutación (carcinomas epidermoides)

	MUTACIÓN		P	OR
	Sí (n=12)	No(n=53)		
VARIABLES ETIOLÓGICAS	Media ± DT	Media ± DT		
Tabaco2			0.11	
No fumador	8(26.7)	22(73.3)		1
Fumador	4(11.4)	31(88.6)		0.36(0.09-1.33)
Alcohol2			0.56	
No bebedor	8(23.6)	26(76.4)		1
Bebedor	5(15.6)	27(84.4)		0.69(0.19-2.44)
Lesiones precancerosas			0.68	
No	9(17)	44(83)		1
Si	3(25)	9(75)		1.63(0.37-7.23)

6.2.1.3.3 Variables clínicas

En los pacientes mutados, la media del diámetro máximo fue casi medio centímetro mayor que en los no mutados. También el tiempo de evolución previo al diagnóstico fue mayor. Sin embargo, estas diferencias no fueron significativas. Tampoco hubo diferencias en el resto de variables clínicas. La frecuencia de mutaciones alcanzó un 50% en mucosa yugal, un 30% en encía y un 25% en trigono y orofaringe.

Tabla 36. Asociación entre variables clínicas y mutación (carcinomas epidermoides)

VARIABLES CLÍNICAS	MUTACIÓN		P	OR
	Sí (n=12)	No(n=53)		
	Media \pm DT	Media \pm DT		
Charlson crudo	2.42 \pm 0.67	2.49 \pm 0.75	0.83	0.86(0.35-2.14)
Charlson ajustado	4.75 \pm 1.66	4.83 \pm 1.51	0.99	0.97(0.64-1.46)
Diámetro máximo (cms)	3.11 \pm 1.41	2.66 \pm 1.30	0.36	1.29(0.80-2.08)
Tiempo de evolución (meses)	17.83 \pm 30.07	5.27 \pm 5.55	0.38	1.08(0.97-1.19)
Localización			-	
Labio inferior	0	2(100)		
Lengua móvil	2(10)	18(90)		
Base de lengua	0	3(100)		
Suelo de boca	0	7(100)		
Mucosa yugal	2(50)	2(50)		
Encía	6(30)	14(70)		
Trígono	1(25)	3(75)		
Paladar	0	1(100)		
Orofaringe	1(25)	3(75)		
Localización.rec			0.99	
Orofaringe	1(16.7)	6(83.3)		1
Cavidad oral	11(19)	47(81)		1.40(0.15-2.88)
Patrón macroscópico			0.42	
No ulceroso	3(27.3)	8(72.7)		1
Ulceroso	9(17)	44(83)		0.54(0.12-2.46)

6.2.1.3.4 Variables relacionadas con el tratamiento

No se encontraron asociaciones entre la presencia de mutación y las variables relacionadas con el tratamiento en carcinomas epidermoides.

Tabla 37. Asociación entre variables relacionadas con el tratamiento y mutación (carcinomas epidermoides)

	MUTACIÓN		P	OR
	Sí (n=12)	No(n=53)		
VARIABLES TRATAMIENTO	Media ± DT	Media ± DT		
Tipo de tratamiento²			0.49	
Cirugía	7(15.6)	38(84.4)		1
Otros	5(25)	15(80)		1.81(0.50-6.6)
Resección.rec			0.51	
Tejidos blandos	6(15)	34(85)		1
Resección ósea	5(21.7)	18(78.3)		1.57(0.42-5.88)
Reconstrucción²			0.73	
Borde a borde-colg local	7(17.1)	36(72.9)		1
Colg reg-libre	4(20)	16(80)		1.29(0.33-5.02)
Vaciamiento cervical			0.74	
No	5(19.2)	21(80.8)		1
Si	6(15.8)	32(74.2)		0.75(0.20-2.78)
Traqueotomía			0.50	
No	8(21.1)	30(78.9)		1
Si	3(12)	22(88)		0.51(0.12-2.15)
Traqueotomía			0.42	
Programada	2(9.5)	19(90.5)		1
Urgente	1(25)	3(75)		3.17(0.21-46.73)
Complicaciones postop			0.99	
No	8(18.6)	35(81.4)		1
Si	3(15)	17(85)		0.77(0.18-3.28)
Complicaciones herida/colgajo			0.99	
No	9(17.3)	43(82.7)		1
Si	2(20)	8(80)		1.19(0.22-6.59)
Tiempo de ingreso	11.09±10.68	11.69±14.44	0.80	0.99(0.95-1.05)

6.2.1.3.5 Variables relacionadas con el estudio histológico

Tampoco hubo asociación entre mutación y ninguna de las variables histológicas estudiadas.

Tabla 38. Asociación entre variables relacionadas con el estudio histológico y mutación (carcinomas epidermoides)

VARIABLES HISTOLÓGICAS	MUTACIÓN		P	OR
	Sí (n=12) Media ± DT	No(n=53) Media ± DT		
Márgenes			-	
Libres	9(81.8)	41(78.9)		1
Próximos	1(9.1)	5(9.6)		0.91(0.09-8.77)
Afectos	1(9.1)	6(11.5)		0.76(0.08-7.11)
Afectación ósea			0.99	
No	8(72.7)	39(75)		1
Si	3(17.3)	13(25)		1.12(0.26-4.88)
Grado de diferenciación			-	
BD	3(30)	15(28.3)		1
MD	7(70)	34(71.7)		1.03(0.23-4.53)
PD	0	4(100)		
Afectación ganglionar			0.99	
No	8(72.7)	36(69.2)		1
Si	3(27.3)	16(30.8)		0.84(0.20-3.60)
Invasión extracapsular			0.99	
No	10(90.9)	48(92.3)		1
Si	1(9.1)	4(7.7)		1.11(0.11-10.96)
Invasión perineural			0.99	
No	10(90.9)	47(90.4)		1
Si	1(9.1)	5(9.6)		0.94(0.10-8.94)
Invasión perivascular			0.34	
No	11(100)	45(86.5)		1
Si	0	7(13.5)		
T.rec			0.73	
Precoz (T1-T2)	8(66.7)	38(71.7)		1
Avanzado (T3-T4)	4(33.3)	15(28.3)		1.27(0.33-4.84)
pEstadiaje.rec			0.56	
Precoz (I-II)	7(58.3)	26(49.1)		1
Avanzado (III y IV)	5(41.7)	27(50.9)		0.69(0.19-2.44)

6.2.1.3.6 Variables relacionadas con el estudio genómico

En el grupo de carcinomas epidermoides tampoco se encontró asociación entre mutación y amplificación.

Tabla 39. Asociación entre variables relacionadas con el estudio genómico y mutación (carcinomas epidermoides)

	MUTACIÓN			
	Sí (n=12)	No(n=53)		
VARIABLES GENÓMICA	Media ± DT	Media ± DT	P	OR
Amplificación			0.73	
No	7(16.7)	35(83.3)		1
Si	4(20)	16(80)		1.25(0.32-4.89)

6.2.1.3.7 Variables relacionadas con la evolución

Aunque no hubo diferencias estadísticamente significativas en cuanto a las variables de evolución entre pacientes con mutación y sin mutación, podemos observar los siguientes datos:

- El porcentaje de recidivas fue mayor en los pacientes con mutación de PIK3CA que en los no mutados (más de un 10% más recidivas en los mutados).
- El tiempo transcurrido hasta la aparición de la recidiva fue 2 meses más corto en pacientes con mutación que en pacientes sin mutación.
- El porcentaje de éxitos fue también más de un 20% mayor en pacientes con mutación.
- Tanto la mortalidad por cáncer epidermoide oral como la mortalidad por cáncer fue mayor en pacientes con mutación.
- El tiempo de seguimiento fue entre 7 y 8 meses más corto en pacientes con mutación.

Tabla 40. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y mutación (carcinomas epidermoides)

VARIABLES EVOLUCIÓN	MUTACIÓN		P	OR
	Sí (n=12) Media \pm DT	No(n=53) Media \pm DT		
Recidiva			0.503	
No	7(58.3)	37(69.8)		1
Si	5(41.7)	16(30.2)		0.99(0.46-2.18)
T hasta la recidiva	14.72 \pm 9.77	16.45 \pm 15.81	0.741	0.99(0.92-1.07)
Tipo recidiva2			0.99	
Local	3(60)	9(56.3)		0.86(0.11-6.62)
Otras	2(40)	7(43.8)		
Tum no CyC			0.73	
No	8(66.7)	38(71.7)		1
Si	4(33.3)	15(28.3)		1.27(0.33-4.84)
Nº tumores	1.58 \pm 0.79	1.58 \pm 9.97	0.73	0.99(0.51-1.96)
Éxitus			0.16	
No	4(33.3)	29(55.8)		1
Si	8(66.7)	23(44.2)		2.52(0.67-9.43)
Mortalidad por carc epid oral			0.16	
No	7(58.3)	41(78.8)		1
Si	5(41.7))	11(21.2)		2.66(0.71-10.03)
Mortalidad por cáncer			0.51	
No	7(58.3)	36(69.2)		1
Si	5(41.7)	16(30.8)		1.61(0.44-5.84)
Tiempo de seguimiento				
Bx-último contacto	39.34 \pm 21.85	47.14 \pm 27.58	0.42	0.99(0.97-1.01)
Inicio tto-último contacto	39.23 \pm 21.66	46.82 \pm 27.49	0.45	0.99(0.97-1.01)

6.2.1.3.8 Análisis multivariante

De nuevo incluimos en el modelo de regresión multivariante las variables de relevancia clínica, dado que no hubo asociaciones significativas en el análisis bivariante. Inicialmente incluimos la edad, el sexo, el tabaco, el alcohol, la afectación ganglionar y el estadiaje tumoral, dado que son las variables más estudiadas en relación con la mutación de PIK3CA en los estudios en carcinoma epidermoide oral (tabla 41). En dicho modelo se objetiva que las variables que presentan asociación con la mutación son el sexo y el hábito tabáquico, que actuaría como factor protector, y la edad estaría cercana a la significación estadística ($p=0.094$). Si eliminamos la variable tabaco por ser un factor confusor (tabla 42), ninguna de las variables del modelo se asocia de forma significativa con la presencia de mutación. Ajustando por dichas variables, el sexo masculino y la afectación ganglionar siguen manteniendo el sentido que se apreciaba en los modelos bivariados, presentando mayor riesgo que el sexo femenino y que aquellos sin afectación ganglionar respectivamente. El OR para el sexo masculino es 4,72(IC(95%)=0,77-28,92); y para la afectación ganglionar OR=1,83(IC(95%)=0,13-25,70).

Tabla 41. Modelo 1 de regresión multivariante para el riesgo de mutación en carcinomas epidermoides

	B	E.T.	Sig.	OR	IC (95%) para OR	
Edad	-,038	,036	,292	,962	,896	1,034
Sexo (ref: mujer)	1,551	,925	,094	4,718	,770	28,923
Alcohol si (ref: no)	,172	,948	,856	1,188	,185	7,619
Tabaco si (ref: no)	-2,249	1,048	,032	,105	,014	,823
Afectación ganglionar (ref: no)	,607	1,347	,652	1,834	,131	25,698
pEstadiaje avanzado (ref: precoz)	-,959	1,209	,428	,383	,036	4,098
Constante	1,258	2,740	,646	3,520		

Tabla 42. Modelo 2 de regresión multivariante para el riesgo de mutación en carcinomas epidermoides

	B	E.T.	Sig.	OR	IC (95%) para OR	
Edad	-,013	,029	,667	,987	,932	1,046
Sexo (ref: mujer)	,904	,835	,279	2,469	,481	12,679
Alcohol si (ref: no)	-,646	,793	,415	,524	,111	2,477
Afectación ganglionar (ref: no)	,583	1,281	,649	1,791	,145	22,066
pEstadiaje avanzado (ref: precoz)	-,912	1,153	,429	,402	,042	3,852
Constante	-,770	2,215	,728	,463		

6.2.2 Comparación entre presencia y ausencia de amplificación

6.2.2.1 Para la muestra global

6.2.2.1.1 Variables demográficas

No se encontraron asociaciones significativas entre edad o sexo y la presencia de amplificación.

Tabla 43. Asociación entre variables demográficas y amplificación (muestra global)

	AMPLIFICACIÓN		P	OR
	Sí(n=25)	No(n=63)		
VARIABLES DEMOGRÁFICAS	Media \pm DT	Media \pm DT		
Edad (años)	63.76 \pm 12.64	66.94 \pm 13.14	0.32	0.98(0.95-1.02)
Sexo			0.87	
Hombre	12(29.3)	29(70.7)		1
Mujer	13(27.7)	34(72.3)		0.92(0.36-2.34)

6.2.2.1.2 Variables etiológicas

No se encontraron asociaciones con los hábitos tóxicos, a pesar de que la frecuencia de amplificación fue más alta en no fumadores y bebedores (casi el doble que en no bebedores).

Tabla 44. Asociación entre variables etiológicas y amplificación (muestra global)

	AMPLIFICACIÓN		P	OR
	Sí(n=25)	No(n=63)		
VARIABLES ETIOLÓGICAS	Media \pm DT	Media \pm DT		
Tabaco2			0.76	
No fumador	11(35.5)	30(64.5)		1
Fumador	14(29.8)	33(70.2)		1.16(0.46-2.94)
Alcohol2			0.29	
No bebedor	12(24)	38(76)		1
Bebedor	13(46.4)	25(43.6)		1.65(0.65-4.19)

6.2.2.1.3 Variables clínicas

No se encontraron asociaciones entre amplificación y las distintas variables clínicas. Las amplificaciones fueron más frecuentes en carcinomas que en lesiones precancerosas. Las muestras de orofaringe presentaron más del doble de amplificaciones que las de la cavidad oral, aunque esto no resultó significativo. Tanto en la base de la lengua como en otras localizaciones de la orofaringe al menos la mitad de las muestras presentaron amplificación de PIK3CA.

Tabla 45. Asociación entre variables clínicas y amplificación (muestra global)

	AMPLIFICACIÓN			
	Sí(n=25)	No(n=63)		
VARIABLES CLÍNICAS	Media ± DT	Media ± DT	P	OR
Charlson crudo	1.88±1.01	1.90±1.30	0.91	0.98(0.67-1.44)
Charlson ajustado	3.80±1.83	4.17±2.06	0.35	0.91(0.72-1.15)
Tipo lesión			0.22	
Precáncer	5(19.2)	21(80.8)		1
Cáncer	20(32.3)	42(67.7)		2.00(0.66-6.08)
Localización			-	
Labio inferior	0	2(100)		
Lengua móvil	5(16.1)	26(83.9)		
Base de lengua	2(66.7)	1(33.3)		
Suelo de boca	2(28.6)	5(71.4)		
Mucosa yugal	4(44)	7(56)		
Encía	8(33.3)	16(66.7)		
Trígono	2(33.3)	4(66.7)		
Orofaringe	2(50)	2(50)		
Localización.rec			0.09	
Orofaringe	4(57.1)	3(42.9)		1
Cavidad oral	21(25.9)	60(74.1)		0.26(0.05-1.27)

6.2.2.1.4 Variables relacionadas con el estudio genómico

Tabla 46. Asociación entre variables relacionadas con el estudio genómico y amplificación (muestra global)

	AMPLIFICACIÓN			
	Sí(n=25)	No(n=63)		
VARIABLES GENÓMICA	Media ± DT	Media ± DT	P	OR
Mutación			0.77	
No	20(27.8)	52(72.2)		1
Si	5(31.2)	11(68.8)		1.18(0.36-3.38)

6.2.2.1.5 Variables relacionadas con la evolución

Los pacientes con amplificación de PIK3CA presentaron peores datos en cuanto a las variables relacionadas con la evolución (más tumores, más éxitus, mayor mortalidad tanto por carcinoma epidermoide oral como por cáncer y menor tiempo de seguimiento), aunque ninguna de estas diferencias alcanzó la significación estadística.

Tabla 47. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y amplificación (muestra global)

	AMPLIFICACIÓN		P	OR
	Sí(n=25)	No(n=63)		
VARIABLES EVOLUCIÓN	Media ± DT	Media ± DT		
Tum no CyC			0.26	
No	17(68)	50(79.4)		1
Si	8(32)	13(20.6)		1.81(0.64-5.11)
Tumores CyC			0.82	
No	5(20)	14(22.2)		1
Si	20(80)	49(77.8)		1.14(0.36-3.59)
Nº tumores	1.28±0.98	1.16±0.90	0.62	1.15(0.70-1.89)
Éxitus			0.59	
No	15(60)	41(66.1)		1
Si	10(40)	21(33.9)		1.30(0.50-3.39)
Mortalidad por carc epid oral			0.12	
No	18(72)	54(87.1)		1
Si	7(28)	8(12.9)		2.63(0.83-8.26)
Mortalidad por cáncer)			0.28	
No	18(72)	51(82.3)		1
Si	7(28)	11(17.7)		1.80(0.61-5.36)
Tiempo de seguimiento				
Desde bx a último contacto	49.45±24.87	56.17±26.26	0.16	0.99(0.97-1.01)

6.2.2.1.6 Análisis multivariante

Puesto que en el análisis bivariante ninguna de las variables a estudio mostró una asociación estadísticamente significativa con la presencia de amplificación de PIK3CA, ajustamos un modelo de regresión multivariante como en los casos anteriores con las variables edad, sexo, alcohol y tabaco. En dicho modelo se objetiva que ninguna de las variables presenta asociación con la amplificación.

Tabla 48. Modelo de regresión multivariante para el riesgo de amplificación para el conjunto total de muestras.

	B	E.T.	Sig.	OR	IC (95%) para OR	
Edad	-,021	,021	,314	,979	,939	1,020
Sexo (ref: mujer)	-,379	,622	,542	,684	,202	2,314
Alcohol si (ref: no)	,745	,605	,218	2,106	,644	6,886
Tabaco si (ref: no)	-,282	,703	,688	,754	,190	2,990
Constante	,483	1,532	,752	1,621		

6.2.2.2 Para lesiones precancerosas

6.2.2.2.1 Variables demográficas

La media de edad fue 4 años más baja en pacientes sin amplificación (no significativo).

Tabla 49. Asociación entre variables demográficas y amplificación (lesiones precancerosas)

	AMPLIFICACIÓN		P	OR
	Sí(n=5)	No(n=21)		
VARIABLES DEMOGRÁFICAS	Media ± DT	Media ± DT		
Edad (años)	59.40±15.09	63.63±13.50	0.67	0.98(0.90-1.05)
Sexo			0.13	
Mujer	5(29.4)	12(70.6)		1
Hombre	0	9(100)		

6.2.2.2.2 Variables etiológicas

Se encontró asociación estadísticamente significativa entre tabaco y amplificación en el grupo de lesiones precancerosas, actuando este como factor protector (el ser fumador reduciría el riesgo de tener una amplificación en el gen PIK3CA a la mitad). Probablemente se trate de un factor confusor, ya que no tenemos ninguna amplificación en fumadores (la muestra es muy pequeña).

Tabla 50. Asociación entre variables etiológicas y amplificación (lesiones precancerosas)

	AMPLIFICACIÓN		P	OR
	Sí(n=5)	No(n=21)		
VARIABLES ETIOLÓGICAS	Media ± DT	Media ± DT		
Tabaco2			0.04	
No fumador	5(38.5)	8(61.5)		
Fumador	0	13(100)		
Alcohol2			0.99	
No bebedor	4(21.1)	15(78.9)		1
Bebedor	1(14.3)	6(85.7)		0.63(0.06-6.80)

6.2.2.2.3 Variables clínicas

La amplificación no se relacionó con ninguna de las variables clínicas en lesiones precancerosas.

Tabla 51. Asociación entre variables clínicas y amplificación (lesiones precancerosas)

	AMPLIFICACIÓN		P	OR
	Sí(n=5)	No(n=21)		
VARIABLES CLÍNICAS	Media ± DT	Media ± DT		
Charlson crudo	0.20±0.45	0.52±0.98	0.52	0.50(0.07-3.44)
Charlson ajustado	1.80±1.64	2.38±1.80	0.57	0.82(0.46-1.47)
Localización			-	
Labio inferior	0	0		
Lengua móvil	0	11(100)		
Base de lengua	0	0		
Suelo de boca	0	0		
Mucosa yugal	3(42.9)	4(57.1)		
Encía	2(33.3)	4(66.7)		
Trígono	0	2(100)		
Paladar	0	0		
Orofaringe	0	0		
Localización.rec			-	
Orofaringe	0	0		
Cavidad oral	5(19.2)	21(80.8)		

6.2.2.2.4 Variables relacionadas con el estudio genómico

Tabla 52. Asociación entre variables relacionadas con el estudio genómico y amplificación (lesiones precancerosas)

	AMPLIFICACIÓN			
	Si(n=5)	No(n=21)		
VARIABLES GENÓMICA	Media ± DT	Media ± DT	P	OR
Mutación			0.99	
No	4(80)	17(81)		1
Si	1(20)	4(19)		1.06(0.09-12.28)
Tipo mutación			-	
E542K	0	1(100)		
E545KD	0	1(100)		
H1047R	1(33.3)	2(66.7)		

6.2.2.2.5 Variables relacionadas con la evolución

No se encontraron diferencias significativas entre amplificados y no amplificados en cuanto a las variables de evolución.

Tabla 53. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y amplificación (lesiones precancerosas)

	AMPLIFICACIÓN			
	Si(n=5)	No(n=21)		
VARIABLES EVOLUCIÓN	Media ± DT	Media ± DT	P	OR
Tum no CyC			0.99	
No	4(80)	18(85.7)		1
Si	1(20)	3(14.3)		1.50(0.12-18.44)
Tumores CyC			0.28	
No	5(100)	14(66.7)		1
Si	0	7(33.3)		
Nº tumores	0.20±0.45	0.62±1.02	0.39	0.43(0.06-2.96)
Éxitus			0.99	
No	5(100)	18(85.7)		1
Si	0	3(14.3)		
Mortalidad por carc epid oral			-	
No	5(100)	21(100)		
Si	0	0		
Tiempo de seguimiento				
Bx-último contacto	72.42±5.48	70.94±16.02	0.63	1.01(0.94-1.08)

6.2.2.2.6 Análisis multivariante

En el grupo de lesiones precancerosas, debido al pequeño tamaño muestral, no se pudo ajustar un modelo de regresión multivariante para el riesgo de amplificación de PIK3CA.

6.2.2.3 Para carcinomas epidermoides

6.2.2.3.1 Variables demográficas

No se encontraron asociaciones significativas con edad ni sexo, a pesar de que la amplificación es más frecuente en varones y la edad media es menor en pacientes con amplificación.

Tabla 54. Asociación entre variables demográficas y amplificación (carcinomas epidermoides)

	AMPLIFICACIÓN		P	OR
	Sí(n=20)	No(n=42)		
VARIABLES DEMOGRÁFICAS	Media ± DT	Media ± DT		
Edad (años)	64.85±12.14	68.60±12.79	0.25	0.98(0.93-1.02)
Sexo			0.68	
Mujer	7(29.2)	17(70.8)		1
Hombre	13(34.2)	25(65.8)		1.26(0.42-3.82)

6.2.2.3.2 Variables etiológicas

Tampoco se encontraron relaciones significativas entre la presencia de amplificación y los hábitos tóxicos, aunque aquella fue más frecuente en fumadores y en no bebedores.

Tabla 55. Asociación entre variables etiológicas y amplificación (carcinomas epidermoides)

	AMPLIFICACIÓN		P	OR
	Sí(n=20)	No(n=42)		
VARIABLES ETIOLÓGICAS	Media ± DT	Media ± DT		
Tabaco2			0.28	
No fumador	8(25.8)	23(74.2)		1
Fumador	12(38.7)	19(61.3)		2.57(0.83-7.96)
Alcohol2			0.56	
No bebedor	7(21.2)	26(78.8)		1
Bebedor	5(15.6)	27(84.4)		1.82(0.62-5.36)
Lesiones precancerosas			0.48	
No	18(43.9)	33(56.1)		1
Si	2(18.2)	9(71.8)		0.41(0.08-2.07)

6.2.2.3.3 Variables clínicas

- Tanto el Charlson crudo como el Charlson ajustado fueron menores en los pacientes con amplificación. En el caso del Charlson ajustado esta diferencia rozó la significación estadística ($p=0.08$).
- No hubo asociaciones significativas con el resto de variables clínicas, aunque cabe destacar que en determinadas localizaciones el porcentaje de amplificación alcanzó (trígono, orofaringe) y hasta superó el 50% (base de lengua). Podemos ver que la frecuencia de amplificación en orofaringe casi duplicó a la frecuencia en cavidad oral.

Tabla 56. Asociación entre variables clínicas y amplificación (carcinomas epidermoides)

	AMPLIFICACIÓN		P	OR
	Sí(n=20)	No(n=42)		
VARIABLES CLÍNICAS	Media \pm DT	Media \pm DT		
Charlson crudo	2.30 \pm 0.57	2.60 \pm 0.80	0.15	0.53(0.22-1.26)
Charlson axustado	4.30 \pm 1.53	5.07 \pm 1.54	0.08	0.71(0.49-1.03)
Diámetro máximo (cms)	2.785 \pm 1.412	2.755 \pm 1.223	0.922	
Tiempo de evolución (meses)	10.30 \pm 25.07	6.22 \pm 6.85	1.02	1.02(0.97-1.06)
Localización			-	
Labio inferior	0	2(100)		
Lengua móvil	5(25)	15(75)		
Base de lengua	2(66.7)	1(33.3)		
Suelo de boca	2(28.6)	5(71.4)		
Mucosa yugal	1(25)	3(75)		
Encía	6(33.3)	12(66.7)		
Trígono	2(50)	2(50)		
Orofaringe	2(50)	2(50)		
Localización.rec			0.20	
Orofaringe	4(57.1)	3(42.9)		1
Cavidad oral	16(29.1)	39(70.9)		0.31(0.06-1.53)
Aspecto macroscópico			0.73	
No ulceroso	4(36.4)	7(63.6)		1
Ulceroso	15(30)	35(70)		0.75(0.19-2.95)

6.2.2.3.4 Variables relacionadas con el tratamiento

No se encontraron asociaciones entre amplificación y las variables relacionadas con el tratamiento.

Tabla 57. Asociación entre variables relacionadas con el tratamiento y amplificación (carcinomas epidermoides)

	AMPLIFICACIÓN		P	OR
	Sí(n=20)	No(n=42)		
VARIABLES TRATAMIENTO	Media ± DT	Media ± DT		
Tipo de tratamiento2			0.51	
Cirugía	15(35.7)	28(64.3)		1
Otros	5(26.3)	14(73.7)		0.67(0.20-2.21)
Resección.rec			0.44	
Tejidos blandos	12(30)	28(70)		1
Resección ósea	8(40)	12(60)		1.56(0.51-4.77)
Reconstrucción2			0.69	
Cierre directo-colg local	13(31.7)	28(68.3)		1
Colg regional-libre	7(36.8)	12(63.2)		1.26(0.40-3.93)
Vaciamiento cervical			0.70	
No	8(36.4)	14(63.6)		1
Si	12(31.6)	26(68.4)		0.81(0.27-2.44)
Traqueotomía			0.26	
No	10(27.8)	26(72.2)		1
Si	10(41.7)	14(58.3)		1.86(0.62-5.53)
Traqueotomía			0.55	
Programada	8(38.1)	13(61.9)		1
Urgente	2(66.7)	1(33.3)		3.25(0.25-41.91)
Complicaciones postop			0.69	
No	13(65)	28(70)		1
Si	7(35)	12(30)		1.26(0.40-3.93)
Complicaciones herida/colgajo			0.47	
No	18(90)	31(79.5)		1
Si	2(10)	8(20.5)		0.43(0.08-2.25)
Tiempo de ingreso	12.20±14.04	11.83±14.19	0.82	1.00(0.96-1.04)

6.2.2.3.5 Variables relacionadas con el estudio histológico

Aunque la afectación ganglionar, el T avanzado (3 y 4) y el estadiaje avanzado (III y IV) fueron más frecuentes en el grupo de carcinomas con amplificación de PIK3CA, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Tabla 58. Asociación entre variables relacionadas con el estudio histológico y amplificación (carcinomas epidermoides)

	AMPLIFICACIÓN			
	Sí(n=20)	No(n=42)		
VARIABLES HISTOLÓGICAS	Media ± DT	Media ± DT	P	OR
Márgenes			-	
Libres	16(80)	31(77.5)		1
Próximos	2(10)	4(10)		0.97(0.16-5.87)
Afectos	2(10)	5(12.5)		0.77(0.13-4.45)
Afectación ósea			0.99	
No	15(75)	30(75)		1
Si	5(25)	10(25)		1.00(0.29-3.45)
Grado de diferenciación			-	
BD	6(31.6)	12(29.3)		1
MD	12(63.2)	26(63.4)		0.92(0.28-3.05)
PD	1(5.3)	3(7.3)		0.67(0.06-7.85)
No determinado				
Afectación ganglionar			0.33	
No	12(60)	29(72.5)		1
Si	8(40)	11(27.5)		1.76(0.57-5.45)
Invasión extracapsular			0.65	
No	18(90)	37(92.5)		1
Si	2(10)	3(7.5)		1.44(0.22-9.41)
Invasión perineural			0.66	
No	19(95)	36(90)		1
Si	1(5)	4(10)		0.47(0.05-4.54)
Invasión perivascular			0.65	
No	19(95)	35(77.5)		1
Si	1(5)	5(12.5)		0.37(0.04-3.39)
T.rec			0.47	
Precoz (T1-T2)	13(65)	31(73.8)		1
Avanzado (T3-T4)	7(35)	11(26.2)		1.52(0.48-4.78)
pEstadiaje.rec			0.59	
Precoz (I y II)	9(45)	22(52.4)		1
Avanzado (III y IV)	11(55)	20(47.6)		1.34(0.46-3.92)

6.2.2.3.6 Variables relacionadas con el estudio genómico

Tampoco en este grupo hubo asociación entre amplificación y mutación.

Tabla 59. Asociación entre variables relacionadas con el estudio genómico y amplificación (carcinomas epidermoides)

	AMPLIFICACIÓN		P	OR
	Sí(n=20)	No(n=42)		
VARIABLES GENÓMICA	Media ± DT	Media ± DT		
Mutación			0.73	
No	16(80)	35(83.3)		1
Si	4(20)	7(16.7)		1.25(0.32-4.89)



6.2.2.3.7 Variables relacionadas con la evolución

Todos las variables relacionadas con la evolución obtuvieron peores datos en los pacientes con amplificación (más tumores, mas éxitos, mayor porcentaje de recidivas no locales, menor tiempo de seguimiento...). Pero la única variable que alcanzó la significación estadística fue la recidiva; los pacientes con mutación presentaron recidiva en un 50% de los casos, frente a un 21,4% en los pacientes sin amplificación ($p=0,02$).

Tabla 60. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y amplificación (carcinomas epidermoides)

	AMPLIFICACIÓN			
	Sí(n=20)	No(n=42)		
VARIABLES EVOLUCIÓN	Media \pm DT	Media \pm DT	P	OR
Tum no CyC			0.36	
No	13(65)	32(76.2)		1
Si	7(35)	10(23.8)		1.72(0.54-5.50)
Nº tumores	1.55 \pm 0.89	1.43 \pm 0.70	0.69	1.23(0.62-2.44)
Recidiva			0.02	
No	10(50)	33(78.6)		1
Si	10(50)	9(21.4)		3.67(1.17-11.52)
T hasta la recidiva	11.43 \pm 5.55	23.28 \pm 19.37	0.16	0.92(0.82-1.03)
Tipo recidiva			-	
Local	4(40)	6(66.7)		1
Regional	3(30)	2(22.2)		2.25(0.25-20.13)
Loco-regional	2(20)	1(11.1)		3.00(0.20-45.24)
A distancia	1(10)	0		-
Tipo recidiva2			0.37	
Local	4(40)	6(66.7)		1
Otros	6(60)	3(33.3)		3(0.46-19.59)
Éxitus			0.65	
No	10(50)	23(56.1)		1
Si	10(50)	18(43.9)		1.28(0.44-3.73)
Mortalidad por carc epid oral			0.22	
No	13(65)	33(80.5)		1
Si	7(35)	8(19.5)		2.22(0.67-7.38)
Mortalidad por cáncer			0.51	
No	13(65)	30(63.2)		1
Si	7(35)	11(26.8)		1.47(0.46-4.64)
Tiempo de seguimiento				
Bx-último contacto	43.70 \pm 24.52	48.78 \pm 27.39	0.40	0.99(0.97-1.01)
Inicio tto-último contacto	43.61 \pm 24.61	48.39 \pm 27.22	0.43	0.99(0.97-1.01)

6.2.2.3.8 Análisis multivariante

En este caso, ajustamos un modelo de regresión multivariante en el que incluimos la variable que alcanzó significación estadística en el análisis bivariante, la ocurrencia de recidiva, además de las variables con relevancia clínica (edad, sexo, tabaco, alcohol, afectación ganglionar y estadiaje tumoral). En dicho modelo se objetiva que la única variable que presenta asociación con la amplificación es la recidiva tumoral. Aquellos pacientes con recidiva tumoral presentan 3.57 (IC(95%)=1,07-12.88) veces más riesgo de amplificación que los que no recidivan.

Tabla 61. Modelo de regresión multivariante para el riesgo de amplificación de PIK3CA en carcinomas epidermoides.

	B	E.T.	Sig.	OR	IC (95 %) para OR	
Edad	,000	,028	,988	1,000	,948	1,056
Sexo (ref: mujer)	-,452	,769	,557	,636	,141	2,871
Tabaco si (ref: no)	,997	,856	,244	2,710	,506	14,509
Alcohol si (ref: no)	,102	,728	,888	1,108	,266	4,617
Afectación ganglionar si (ref: no)	,553	,888	,534	1,738	,305	9,914
pEstadiaje Avanzado (ref: precoz)	-,152	,852	,859	,859	,162	4,560
Recidiva si (ref: no)	1,274	,627	,042	3,577	1,069	12,883
Constante	-1,204	2,112	,569	,300		

6.2.3. Comparación entre presencia y ausencia de cambios genéticos en PIK3CA (mutación o amplificación).

6.2.3.1 Para la muestra global

6.2.3.1.1 Variables demográficas

A pesar de que el porcentaje de cambios en PIK3CA fue mayor en hombres, esta diferencia no alcanzó la significación estadística.

Tabla 62. Asociación entre variables demográficas y mutación o amplificación (muestra global)

	MUTACIÓNNoAMPLIFICACION			
	Sí(n=39)	No(n=53)		
VARIABLES DEMOGRÁFICAS	Media ± DT	Media ± DT	P	OR
Edad (años)	63.74±13.95	67.42±12.50	0.23	0.98(0.95-1.01)
Sexo			0.35	
Mujer	16(37.2)	27(62.8)		1
Hombre	23(46.9)	26(53.1)		1.49(0.65-3.44)

6.2.3.1.2 Variables etiológicas

No se encontraron asociaciones entre la presencia de cambios genéticos en PIK3CA y los hábitos tóxicos.

Tabla 63. Asociación entre variables etiológicas y mutación o amplificación (muestra global)

	MUTACIÓNNoAMPLIFICACION			
	Sí(n=39)	No(n=53)		
VARIABLES ETIOLÓGICAS	Media ± DT	Media ± DT	P	OR
Tabaco2			0.57	
No fumador	20(45.5)	24(54.5)		1
Fumador	19(39.6)	29(60.4)		0.79(0.34-1.80)
Alcohol2			0.70	
No bebedor	22(40.7)	32(59.3)		1
Bebedor	17(44.7)	21(55.3)		1.18(0.51-2.72)

6.2.3.1.3 Variables clínicas

- Los cambios genéticos en PIK3CA fueron más frecuentes en carcinomas que en lesiones precancerosas.
- Estos cambios fueron más frecuentes en lesiones de orofaringe que en lesiones de la cavidad oral.
- Algunas localizaciones presentaron una frecuencia de cambios en PIK3CA del 50% (orofaringe) o mayor (base de la lengua, mucosa yugal y encía).
- Ninguna de estas asociaciones resultó estadísticamente significativa.

Tabla 64. Asociación entre variables clínicas y mutación o amplificación (muestra global)

	MUTACIÓNNoAMPLIFICACION			
	Sí(n=39)	No(n=53)		
VARIABLES CLÍNICAS	Media ± DT	Media ± DT	P	OR
Charlson crudo	1.82±1.05	1.89±1.35	0.72	0.96(0.68-1.34)
Charlson ajustado	3.77±1.83	4.17±2.19	0.29	0.91(0.74-1.11)
Tipo lesión			0.69	
Precáncer	11(39.3)	17(60.7)		1
Cáncer	28(43.7)	36(56.3)		1.20(0.48-2.97)
Localización			-	
Labio inferior	0	2(100)		
Lengua móvil	10(32.3)	21(67.7)		
Base de lengua	2(66.7)	1(33.3)		
Suelo de boca	2(28.6)	5(71.4)		
Mucosa yugal	7(53.8)	6(46.2)		
Encía	14(53.8)	12(46.2)		
Trígono	2(33.3)	4(66.7)		
Orofaringe	2(50)	2(50)		
Localización.rec			0.45	
Orofaringe	4(57.1)	3(42.9)		1
Cavidad oral	35(41.2)	50(58.8)		0.52(0.11-2.49)

6.2.3.1.4 Variables relacionadas con la evolución

Todas las variables relacionadas con la evolución presentaron peores datos en el grupo de pacientes con cambios genéticos en PIK3CA, aunque ninguna de ellas alcanzó la significación estadística. Con respecto a la mortalidad por carcinoma epidermoide oral, ésta fue mayor en pacientes con cambios en PIK3CA que en pacientes sin alteraciones en el gen, rozando esta diferencia la significación estadística ($p=0.08$). El riesgo de muerte por carcinoma epidermoide oral casi se triplicaría en caso de existir amplificación o mutación de PIK3CA.

Tabla 65. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y mutación o amplificación (muestra global)

	MUTACIÓN		AMPLIFICACION	
	Sí(n=39)	No(n=53)		
VARIABLES EVOLUCIÓN	Media \pm DT	Media \pm DT	P	OR
Tum no CyC			0.27	
No	27(69.2)	42(79.2)		1
Si	12(30.8)	11(20.8)		1.70(0.66-4.39)
Tumores CyC			0.96	
No	9(23.1)	12(22.6)		1
Si	30(76.9)	41(77.4)		0.98(0.36-2.61)
Nº tumores	1.26 \pm 0.97	1.19 \pm 1.00	0.67	1.07(0.70-1.64)
Éxito			0.21	
No	22(56.4)	36(69.2)		1
Si	17(43.6)	16(30.8)		1.74(0.73-4.13)
Mortalidad por carc epid oral			0.08	
No	29(74.4)	46(88.5)		1
Si	10(25.6)	6(11.5)		2.64(0.87-8.06)
Mortalidad por cáncer			0.46	
No	29(74.4)	42(80.8)		1
Si	10(25.6)	10(19.2)		1.45(0.53-3.92)
Tiempo de seguimiento				
Bx-último contacto	49.91 \pm 24.16	56.82 \pm 27.18	0.13	0.99(0.97-1.01)

6.2.3.1.5 Análisis multivariante

Incluimos en el modelo de regresión de regresión variante las variables de relevancia clínica, al no encontrar asociaciones significativas en el análisis bivalente. Si incluimos edad, sexo, alcohol y tabaco, encontramos que las variables que presentan asociación con la presencia de mutación o amplificación son la edad, y el tabaco (tabla 66). Ambas actuarían como factores protectores frente al riesgo de sufrir alteraciones de PIK3CA. Si eliminamos la variable tabaco por considerarla un factor confusor, en el modelo de regresión multivariante (tabla 67) ningun-

na de las variables se asocian significativamente con la presencia de alteraciones de PIK3CA (mutación o amplificación). Al igual que en los modelos anteriores, el sexo masculino presenta mayor riesgo que el sexo femenino, aunque no de forma estadísticamente significativa.

Tabla 66. Modelo 1 de regresión multivariante para el riesgo de alteraciones PIK3CA (mutación o amplificación) para el conjunto total de las muestras

	B	E.T.	Sig.	OR	IC (95 %) para OR	
Edad	-,040	,020	,047	,961	,923	1,000
Sexo (ref: mujer)	,978	,587	,095	2,660	,842	8,398
Tabaco si (ref: no)	-1,470	,688	,033	,230	,060	,885
Alcohol si (ref: no)	,308	,547	,573	1,361	,466	3,976
Constante	2,440	1,472	,098	11,470		

Tabla 67. Modelo 2 de regresión multivariante para el riesgo de alteraciones PIK3CA (mutación o amplificación) para el conjunto total de las muestras

	B	E.T.	Sig.	OR	IC (95 %) para OR	
Edad	-,020	,017	,225	,980	,948	1,013
Sexo (ref: mujer)	,375	,488	,442	1,455	,559	3,785
Alcohol si (ref: no)	-,104	,494	,833	,901	,342	2,370
Constante	,860	1,177	,465	2,363		

6.2.3.2 Para lesiones precancerosas

6.2.3.2.1 Variables demográficas

No hubo asociación entre cambios en PIK3CA y edad o sexo.

Tabla 68. Asociación entre variables demográficas y mutación o amplificación (lesiones precancerosas)

	MUTACIÓN		NoAMPLIFICACIÓN	
	Sí(n=11)	No(n=17)		
VARIABLES DEMOGRÁFICAS	Media ± DT	Media ± DT	P	OR
Edad (años)	59.91±13.82	62.71±14.15	0.62	0.98(0.93-1.04)
Sexo			0.99	
Mujer	7(38.9)	11(61.1)		1
Hombre	4(40)	6(60)		1.05(0.22-5.09)

6.2.3.2.2 Variables etiológicas

No hubo asociaciones significativas entre cambios en PIK3CA y hábitos tóxicos en lesiones precancerosas, aunque el porcentaje de mutaciones en no fumadores casi duplicó al de fumadores.

Tabla 69. Asociación entre variables etiológicas y mutación o amplificación (lesiones precancerosas)

	MUTACIÓNNoAMPLIFICACIÓN			
	Sí(n=11)	No(n=17)		
VARIABLES FACTORES RIESGO	Media ± DT	Media ± DT	P	OR
Tabaco2			0.25	
No fumador	7(50)	7(50)		1
Fumador	4(28.6)	10(71.4)		0.40(0.08-1.91)
Alcohol2			0.99	
No bebedor	8(38.1)	13(61.9)		1
Bebedor	3(42.9)	4(57.1)		1.22(0.22-6.92)

6.2.3.2.3 Variables clínicas

No hubo asociaciones significativas. El porcentaje de cambios genéticos en PIK3CA alcanzó o superó el 50% en las localizaciones mucosa yugal y encía.

Tabla 70. Asociación entre variables clínicas y mutación o amplificación (lesiones precancerosas)

	MUTACIÓNNoAMPLIFICACIÓN			
	Sí(n=11)	No(n=17)		
VARIABLES CLÍNICAS	Media ± DT	Media ± DT	P	OR
Charlson crudo	0.73±1.27	0.24±0.44	0.34	2.13(0.67-6.78)
Charlson ajustado	2.27±1.90	2.00±1.77	0.65	1.09(0.71-1.68)
Localización			-	
Labio inferior	0	0		
Lengua móvil	3(27.3)	8(62.7)		
Base de lengua	0	0		
Suelo de boca	0	0		
Mucosa yugal	5(55.6)	4(44.4)		
Encía	3(50)	3(50)		
Trígono	0	2(100)		
Paladar	0	0		
Orofaringe	0	0		
Localización.rec			-	
Cavidad oral	11(39.3)	17(60.7)		
Orofaringe	0	0		

6.2.3.2.4 Variables relacionadas con la evolución

- El porcentaje de tumores en distinta localización a cabeza y cuello en pacientes sin cambios genéticos en PIK3CA casi quintuplicó al de los pacientes con mutación o amplificación. El riesgo de sufrir un tumor maligno en estas localizaciones fue 6 veces mayor, aunque esto no resultó estadísticamente significativo.
- El porcentaje de éxitos en pacientes con alteraciones en PIK3CA triplicó al porcentaje de éxitos en pacientes sin cambios en PIK3CA (riesgo 3,56 veces mayor), aunque esta diferencia no fue significativa.
- El tiempo de seguimiento fue casi 8 meses menor en pacientes con cambios en PIK-3CA, aunque esto tampoco resultó significativo.

Tabla 71. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y mutación o amplificación (lesiones precancerosas)

	MUTACIÓNNoAMPLIFICACIÓN			
	Sí(n=11)	No(n=17)		
VARIABLES EVOLUCIÓN	Media ± DT	Media ± DT	P	OR
Tum no CyC			0.27	
No	8(72.7)	16(94.1)		1
Si	3(27.3)	1(5.9)		6(0.53-67.28)
Tumores CyC			0.67	
No	9(81.8)	12(70.6)		1
Si	2(18.2)	5(29.4)		0.53(0.08-3.40)
Nº tumores	0.46±0.69	0.53±1.07	0.80	0.91(0.38-2.15)
Éxitos			0.54	
No	9(81.8)	16(94.1)		1
Si	2(18.2)	1(5.9)		3.56(0.28-44.88)
Mortalidad por carc epid oral				
No	11(100)	17(100)		
Sí	0	0	-	
Tiempo de seguimiento				
Bx-último contacto	66.60±18.74	74.43±9.23	0.33	0.96(0.90-1.02)

6.2.3.2.5 Análisis multivariante

En el modelo de regresión multivariante incluimos las variables edad, sexo y tabaco, dado que en el análisis bivariante de nuevo ninguna de las variables a estudio mostró una asociación estadísticamente significativa con la presencia de amplificación/mutación de PIK3CA. No incluimos la variable alcohol por actuar como factor confusor. En este modelo (tabla 72) ninguna de las variables se asocia de forma significativa con la presencia de alteraciones en PIK3CA (mutación o amplificación).

Tabla 72. Modelo de regresión multivariante para el riesgo de alteraciones PIK3CA (mutación o amplificación) en lesiones precancerosas

	B	E.T.	Sig.	OR	IC (95 %) para OR	
Edad	-,017	,030	,576	,984	,928	1,042
Sexo (ref: mujer)	-,136	,913	,882	,873	,146	5,228
Alcohol si (ref: no)	,286	,993	,773	1,331	,190	9,317
Constante	,556	1,902	,770	1,745		

6.2.3.3. Para carcinomas epidermoides

6.2.3.3.1 Variables demográficas

No se encontraron asociaciones entre alteraciones en PIK3CA y las variables sexo y edad en el análisis bivariante en carcinomas epidermoides.

Tabla 73. Asociación entre variables demográficas y mutación o amplificación (carcinomas epidermoides)

	MUTACIÓNNoAMPLIFICACIÓN			
	Sí(n=28)	No(n=36)		
VARIABLES DEMOGRÁFICAS	Media ± DT	Media ± DT	P	OR
Edad (años)	65.25±13.95	69.64±11.17	0.215	0.97(0.93-1.01)
Sexo			0.32	
Mujer	9(36)	16(64)		1
Hombre	19(48.7)	20(52.3)		1.69(0.60-4.73)

6.2.3.3.2 Variables etiológicas

No se encontraron asociaciones entre los cambios en PIK3CA (mutación o amplificación) y los hábitos tóxicos o la presencia de lesiones precancerosas en carcinomas epidermoides.

Tabla 74. Asociación entre variables etiológicas y mutación o amplificación (carcinomas epidermoides)

	MUTACIÓNNoAMPLIFICACIÓN			
	Sí(n=28)	No(n=36)		
VARIABLES ETIOLÓGICAS	Media ± DT	Media ± DT	P	OR
Tabaco²			0.95	
No fumador	13(43.3)	17(56.7)		1
Fumador	15(44.1)	19(55.9)		1.03(0.38-2.78)
Alcohol²			0.82	
No bebedor	14(42.4)	19(57.6)		1
Bebedor	14(45.2)	17(54.8)		1.12(0.42-3.00)
Lesiones precancerosas			0.74	
No	24(45.3)	29(54.7)		1
Si	4(36.4)	7(63.6)		0.69(0.18-2.64)



6.2.3.3 Variables clínicas

- Tanto el Charlson crudo como el Charlson ajustado fueron significativamente más bajos en pacientes con alteraciones en PIK3CA ($p=0,03$ y $p=0,04$ respectivamente), actuando como factores protectores para el riesgo de sufrir cambios en PIK3CA.
- La frecuencia de cambios en PIK3CA en carcinomas epidermoides orales alcanzó o superó el 50% en las localizaciones base de lengua, encía, mucosa yugal, trigono y orofaringe; aunque no hubo asociaciones estadísticamente significativas. Los cambios en PIK3CA fueron más frecuentes en muestras de orofaringe que en cavidad oral.

Tabla 75. Asociación entre variables clínicas y mutación o amplificación (carcinomas epidermoides)

	MUTACIÓN		AMPLIFICACIÓN	
	Sí(n=28)	No(n=36)		
VARIABLES CLÍNICAS	Media \pm DT	Media \pm DT	P	OR
Charlson crudo	2.25 \pm 0.52	2.67 \pm 0.83	0.03	0.39(0.17-0.92)
Charlson ajustado	4.36 \pm 1.45	5.19 \pm 1.53	0.04	0.68(0.47-0.97)
Diámetro máximo (cms)	2.81 \pm 1.34	2.73 \pm 1.31	0.79	1.05(0.72-1.53)
Tiempo de evolución (meses)	10.25 \pm 21.62	5.67 \pm 5.79	0.64	1.02(0.97-1.09)
Localización			-	
Labio inferior	0	2(100)		
Lengua móvil	7(35)	13(65)		
Base de lengua	2(66.7)	1(33.3)		
Suelo de boca	2(28.6)	5(71.4)		
Mucosa yugal	2(50)	2(50)		
Encía	11(55)	9(45)		
Trígono	2(50)	2(50)		
Orofaringe	2(50)	2(50)		
Localización.rec			0.69	
Orofaringe	4(57.1)	3(42.9)		1
Cavidad oral	24(42.1)	33(57.9)		0.55(0.11-2.67)
Aspecto macroscópico			0.51	
No ulceroso	6(54.5)	5(45.5)		1
Ulceroso	21(40.4)	31(59.6)		0.56(0.15-2.09)

6.2.3.3.4 Variables relacionadas con el tratamiento

No hubo asociaciones entre la presencia de amplificación o mutación y ninguna de las variables relacionadas con el tratamiento en carcinomas epidermoides.

Tabla 76. Asociación entre variables relacionadas con el tratamiento y mutación o amplificación (carcinomas epidermoides)

	MUTACIÓN		No	AMPLIFICACIÓN	
	Sí(n=28)	No(n=36)			
VARIABLES TRATAMIENTO	Media ± DT	Media ± DT	P	OR	
Tipo tratamiento²			0.68		
Cirugía	20(45.5)	24(54.5)		1	
Otros	8(40)	12(60)		0.80(0.27-2.34)	
Resección.rec			0.45		
Tejidos blandos	16(53.3)	24(46.7)		1	
Resección ósea	11(50)	11(50)		1.5(0.53-4.28)	
Reconstrucción²			0.87		
Cierre directo-colg local	18(56.2)	24(43.8)		1	
Colg regional-libre	9(45)	11(55)		1.09(0.37-3.19)	
Vaciamiento cervical			0.77		
No	11(45.8)	13(54.2)		1	
Si	16(42.1)	22(57.9)		0.86(0.31-2.41)	
Traqueotomía			0.77		
No	16(42.1)	22(57.9)		1	
Si	11(45.8)	13(54.2)		1.16(0.42-3.26)	
Traqueotomía			0.58		
Programada	9(42.9)	12(57.1)		1	
Urgente	2(66.7)	1(33.3)		2.67(0.21-34.20)	
Complicaciones postop			0.88		
No	19(44.2)	24(55.8)		1	
Si	8(42.1)	11(57.9)		0.92(0.31-2.74)	
Complicaciones herida/colgajo			0.49		
No	24(47.1)	27(52.9)		1	
Si	3(30)	7(70)		0.48(0.11-2.08)	
Tiempo de ingreso	11.44±12.96	11.89±14.71	0.93	1.00(0.96-1.03)	

6.2.3.3.5 Variables relacionadas con el estudio histológico

Tampoco hubo asociaciones entre los cambios de PIK3CA y las variables relacionadas con el estudio histológico.

Tabla 77. Asociación entre variables relacionadas con el estudio histológico y mutación o amplificación (carcinomas epidermoides)

	MUTACIÓN		No	AMPLIFICACIÓN	
	Sí(n=28)	No(n=36)			
VARIABLES HISTOLÓGICAS	Media ± DT	Media ± DT	P	OR	
Márgenes			-		
Libres	22(81.5)	27(77.2)		1	
Próximos	2(7.4)	4(11.4)		0.61(0.10-3.67)	
Afectos	3(11.1)	4(11.4)		0.19(4.55)	
Afectación ósea			0.98		
No	20(74.1)	26(74.3)		1	
Si	7(25.9)	9(25.7)		1.01(0.32-3.18)	
Grado de diferenciación			-		
BD	8(30.8)	10(27.8)		1	
MD	17(65.4)	23(63.9)		0.92(0.30-2.83)	
PD	1(3.8)	3(8.3)		0.42(0.04-4.81)	
Afectación ganglionar			0.69		
No	18(66.7)	25(71.4)		1	
Si	9(33.3)	10(28.6)		0.67(0.08-5.30)	
Invasión extracapsular			0.99		
No	25(92.6)	32(91.4)		1	
Si	2(7.4)	3(8.6)		0.85(0.13-5.50)	
Invasión perineural			0.69		
No	25(92.6)	31(88.6)		1	
Si	2(7.4)	4(11.4)		0.62(0.10-3.67)	
Invasión perivascular			0.13		
No	26(96.3)	29(82.9)		1	
Si	1(3.7)	6(7.1)		0.19(0.02-1.65)	
T.rec			0.35		
Precoz (T1-T2)	18(64.3)	27(75)		1	
Avanzado (T3-T4)	10(35.7)	9(25)		1.68(0.57-4.91)	
pEstadiaje.rec			0.99		
Precoz (I y II)	14(50)	18(50)		1	
Avanzado (III y IV)	14(50)	18(50)		1.00(0.37-2.68)	

6.2.3.3.6 Variables relacionadas con la evolución

Todas las variables relacionadas con la evolución obtuvieron peores datos en los pacientes con cambios genéticos en PIK3CA que en los pacientes sin alteraciones en el gen, aunque sólo se acercó a la significación estadística la mortalidad por carcinoma epidermoide oral ($p=0.09$). El tiempo hasta la recidiva fue casi 10 meses menor en pacientes con cambios en PIK3CA y el tiempo de seguimiento, 5 meses menor en este mismo grupo de pacientes.

Tabla 78. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y mutación o amplificación (carcinomas epidermoides)

	MUTACIÓN			
	Sí(n=28)	No(n=36)		
VARIABLES EVOLUCIÓN	Media \pm DT	Media \pm DT	P	OR
Recidiva			0.08	
No	16(57.1)	28(77.8)		1
Si	12(42.9)	8(22.2)		2.62(0.89-7.77)
T hasta la recidiva	12.78 \pm 7.84	22.28 \pm 20.46	0.35	0.95(0.87-1.03)
Tipo recidiva2			0.67	
Local	6(50)	5(62.5)		1
Otros	6(50)	3(37.5)		1.67(0.27-10.33)
Tum no CyC			0.70	
No	19(67.9)	26(72.2)		1
Si	9(32.1)	10(27.8)		1.23(0.42-3.62)
Nº tumores	1.57 \pm 0.88	1.50 \pm 0.81	0.78	1.11(0.61-2.01)
Éxito			0.40	
No	13(46.4)	20(57.1)		1
Si	15(53.6)	15(42.9)		1.54(0.57-4.18)
Mortalidad por carc epid oral			0.09	
No	18(64.3)	29(82.9)		1
Si	10(35.7)	6(17.1)		2.68(0.83-8.66)
Mortalidad por cáncer			0.54	
No	18(64.3)	25(71.4)		1
Si	10(35.7)	10(28.6)		1.39(0.48-4.03)
Tiempo de seguimiento				
Bx-último contacto	43.36 \pm 23.11	48.51 \pm 28.93	0.33	0.99(0.97-1.01)
Inicio tto-último contacto	43.28 \pm 23.07	48.05 \pm 28.80	0.37	0.99(0.97-1.01)

6.2.3.3.7 Análisis multivariante

Al realizar el modelo de regresión multivariante con las variables de relevancia clínica (edad, sexo, alcohol, tabaco, afectación ganglionar y estadiaje tumoral) y con aquellas que resultaron estadísticamente significativas en el análisis bivariante (Charlson y recidiva, que aunque no es estrictamente significativo sí está próximo a la significación y nos interesa introducirlo a la vista de los resultados), vemos que tanto el Charlson como la recidiva se asocian significativamente con la presencia de alteraciones genéticas en PIK3CA (mutación o amplificación). El Charlson crudo actuaría como factor protector para las alteraciones de PIK3CA. Se sigue observando que el sexo masculino presenta 2,22 veces más riesgo de sufrir mutación que el femenino (IC(95%)=0,53-10,62).

Tabla 79. Modelo de regresión multivariante para el riesgo de alteraciones en PIK3CA en carcinomas epidermoides.

	B	E.T.	Sig.	OR	IC (95 %) para OR	
Edad	-.034	.027	.210	.965	.909	1.018
Sexo (ref: mujer)	.796	.740	.282	2.217	.530	10.621
Tabaco si (ref: no)	-1.034	.812	.202	.355	.066	1.696
Alcohol si (ref: no)	.449	.747	.568	1.531	.358	7.05
Charlson crudo	-1.167	.511	.022	.311	.101	.775
Afectación ganglionar si (ref: no)	-.095	.914	.916	.908	.145	5.626
pEstadiaje avanzado (ref: precoz)	-.088	.844	.916	.915	.164	4.846
Recidiva si (ref: no)	1.369	.648	.034	3.935	1.159	15.232
Constante	4.389	2.355	.062	80.606	1.010	175.78

6.3 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA (PARA EL GRUPO DE CARCINOMAS EPIDERMÓIDES)

De todos los 67 pacientes con carcinoma epidermoide sólo en uno no estuvo disponible el estado al final del estudio (vivo o muerto), ya que se fue a vivir a un país extranjero tras detectársele la segunda recidiva.

6.3.1 Supervivencia global

La supervivencia global fue de un 60,6% a los 3 años y de un 56,1% a los 5 años. Podemos ver reflejada la supervivencia global acumulada en la tabla 80 y en la figura 56.

Tabla 80. Supervivencia global acumulada.

TIEMPO (meses)	SUPERVIVENCIA GLOBAL
12	89.4
24	66.7
36	60.6
60	56.1
84	46.7

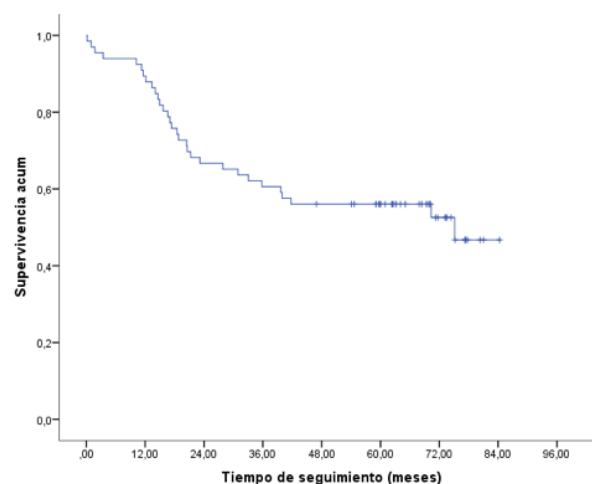


Figura 56. Supervivencia global acumulada

6.3.1.1 Variables demográficas

En la tabla 81 podemos ver la influencia de las variables demográficas sobre la supervivencia global. Se vio que la edad, pero no el sexo, influye significativamente en la supervivencia global. A cada año que aumenta

Tabla 81. Influencia de las variables demográficas sobre la supervivencia global

VARIABLES	ÉXITOS		P	UNIVARIANTE
	SI (n=31)	NO (n=35)		
DEMOGRÁFICAS	Media ± DT	Media ± DT		HR (IC 95%)
Edad	70.94±12.39	65.09±11.54	0.03	1.04 (1.01-1.07)
Sexo			0.86	
Mujer	12 (44.4)	15 (65.6)		1
Hombre	19 (48.7)	20 (51.3)		1.07 (0.52-2.20)

6.3.1.2. Variables relacionadas con los factores de riesgo

En la tabla 82 podemos ver cómo influyen las variables etiológicas en la supervivencia global. No se obtuvo ninguna significación estadística para ninguna de estas variables.

Tabla 82. Influencia de las variables etiológicas sobre la supervivencia global

VARIABLES	ÉXITOS		P	UNIVARIANTE
	SI (n=31)	NO (n=35)		
ETIOLÓGICAS	Media ± DT	Media ± DT		HR (IC 95%)
Tabaco2			0.82	
No fumador	14 (45.2)	17 (54.8)		1
Fumador	17 (48.6)	18 (51.4)		1.09(0.54-2.21)
Alcohol2			0.74	
No bebedor	16 (50)	16 (50)		1
Bebedor	15 (44.1)	19 (55.9)		0.89(0.44-1.79)
Lesiones precancerosas			0.42	
No	24 (44.4)	30 (55.6)		1
Si	7 (58.3)	5 (41.7)		1.41(0.61-3.29)

6.3.1.3 Variables clínicas

En cuanto a las variables clínicas (recogidas en la tabla 77), el Charlson ajustado y el diámetro máximo influyeron significativamente en la supervivencia global. El Charlson crudo y el tiempo de evolución prácticamente alcanzaron también la significación estadística ($p=0,056$ y $p=0,057$ respectivamente). A medida que aumenta el índice de comorbilidad aumenta el riesgo de muerte ($HR=1.34$) y, del mismo modo, a mayor diámetro mayor probabilidad de muerte ($HR=1.73$).

Tabla 83. Influencia de las variables clínicas sobre la supervivencia global

VARIABLES	ÉXITOS		P	UNIVARIANTE
	SI (n=31)	NO (n=35)		
CLÍNICAS	Media ± DT	Media ± DT		HR (IC 95%)
Charlson crudo	2.61±0.84	2.31±0.58	0.06	1.51(0.99-2.31)
Charlson ajustado	5.19±1.64	4.46±1.34	0.02	1.34(1.06-1.70)
Diámetro máximo	3.34±1.31	2.20±1.20	0.000	1.73(1.33-2.26)
Tiempo evolución	12.29±21.22	4.36±5.47	0.057	1.02(0.99-1.04)
Localización.rec			0.14	
Orofaringe	1 (14.2)	6 (85.8)		1
Cavidad oral	30 (50.8)	29 (49.2)		4.47(0.61-32.83)
Aspecto macroscópico			0.72	
No úlcera	6 (46.2)	7 (53.8)		1
Úlcera	25 (48.1)	27 (51.9)		1.18(0.48-2.87)

6.3.1.4 Variables relacionadas con el tratamiento

De entre las variables relacionadas con el tratamiento (tabla 84), podemos ver que el tiempo de ingreso influyó significativamente en la supervivencia global. Cada día más de ingreso el riesgo de muerte se multiplica por 1.04(IC(95%)=1,01-1,06). Al recodificar la variable tipo de resección (por un lado cierre borde a borde y colgajo local y por otro colgajos regional y libre), el grupo de colgajo regional-libre vemos que influye significativamente en la supervivencia global, multiplicando por 2.35 el riesgo de morir con respecto al cierre directo-colgajo local (IC(95%)=1,13-4,91).

Tabla 84. Influencia de las variables relacionadas con el tratamiento sobre la supervivencia global

VARIABLES	ÉXITOS			UNIVARIANTE
TRATAMIENTO	Si(n=31)	No(n=35)	P	HR (IC 95%)
Tipo tratamiento²			0.43	
Cirugía	20 (43.5)	26 (56.5)		1
Otros	11 (55)	9 (45)		1.35(0.64-2.85)
Resección.rec			0.02	
Tejidos blandos	15 (48.4)	26 (51.6)		1
Resección ósea	14 (60.9)	9 (29.1)		2.35(1.13-4.91)
Reconstrucción²			0.05	
Cierre directo-colg local	17 (39.5)	26 (60.5)		1
Colg regional-libre	12 (57.1)	9 (42.9)		2.12(1.00-4.48)
Vaciamiento cervical			0.52	
No	13 (50)	13 (50)		1
Si	16 (42.1)	22 (57.9)		0.78(0.38-1.63)
Traqueotomía			0.32	
No	16 (42.1)	22 (57.9)		1
Si	13 (50)	13 (50)		1.45(0.70-3.03)
Traqueotomía			0.96	
Programada	11 (50)	11 (50)		1
Urgente	2 (50)	2 (50)		1.03(0.23-4.68)
Complicaciones PO			0.11	
No	18 (52.9)	26 (47.1)		1
Si	11 (55)	9 (45)		1.85(0.87-3.92)
Complicaciones herida/colgajo			0.59	
No	23 (43.4)	30 (56.6)		1
Si	5 (50)	5 (50)		1.31(0.50-3.44)
Tiempo ingreso(días)	15.03±18.30	8.60±7.36	0.001	1.04(1.01-1.06)

6.3.1.5 Variables relacionadas con el análisis histológico

Como podemos ver en la tabla 85, tanto los márgenes como la afectación ósea, el T recodificado (precoz versus avanzado) y el estadiaje tumoral recodificado (precoz frente avanzado) influyeron significativamente en la supervivencia global. Tener márgenes próximos en la pieza de resección multiplica por 3.1 el riesgo de morir; tener los márgenes afectos multiplica casi por 5 el riesgo de morir. En cuanto a la afectación ósea, vemos que de ser positiva el riesgo de morir se multiplica por 2,27. Tener un tumor con un T avanzado (3 o 4) multiplica por 2.66 el riesgo de morir. El estadiaje tumoral avanzado (III o IV) multiplica el riesgo de morir por 2.57.

Tabla 85. Influencia de las variables relacionadas con el estudio histológico sobre la supervivencia global

VARIABLES	ÉXITOS			UNIVARIANTE
HISTOLÓGICAS	Si(n=31)	No(n=35)	P	HR (IC 95%)
Márgenes			0.002	
Libres	19(46.3)	32(53.7)		1
Próximos	4(66.7)	2	0.04	3.10(1.04-9.25)
Afectos	6(85.7)	1(14.3)	0.001	4.96(1.93-12.75)
Afectación ósea			0.04	
No	19 (39.6)	29 (60.4)		1
Si	10 (62.5)	6 (37.5)		2.27(1.05-4.89)
Grado diferenciación			0.42	
BD	6 (33.3)	12 (66.7)		1
MD	22 (53.7)	19 (46.3)	0.19	1.84(0.74-4.54)
PD	2 (50)	2 (50)	0.51	1.72(0.35-8.55)
Afectación ganglionar			0.15	
No	18 (40)	27 (60)		1
Si	11 (57.9)	8 (42.1)		1.74(0.81-3.73)
Invasión extracapsular			0.19	
No	25 (42.4)	34 (57.6)		1
Si	4 (80)	1 (20)		2.01(0.70-5.78)
Invasión perineural			0.36	
No	25 (43.1)	33 (56.9)		1
Si	4 (66.7)	2 (33.3)		1.63(0.57-4.70)
Invasión perivascular			0.12	
No	24 (42.1)	33 (57.9)		1
Si	5 (71.4)	2 (28.6)		2.17(0.82-5.73)
Trec			0.008	
Precoz (1 y 2)	18 (39.1)	28 (60.9)		1
Avanzado (3 y 4)	13 (65)	7 (35)		2.66(1.30-5.45)
pEstadiaje.rec			0.01	
Precoz (I y II)	11 (33.3)	22 (66.7)		1
Avanzado (III y IV)	20 (60.6)	13 (39.4)		2.57(1.23-5.39)

6.3.1.6 Variables relacionadas con el análisis genómico

Ni la mutación ni la amplificación de PIK3CA influyeron significativamente en la supervivencia global, como podemos ver en los datos de la tabla 86.

Tabla 86. Influencia de las variables relacionadas con el estudio genómico sobre la supervivencia global

VARIABLES	ÉXITOS			UNIVARIANTE
GENÓMICA	Si(n=31)	No(n=35)	P	HR (IC 95%)
Mutación			0.29	
No	23 (44.2)	29 (55.8)		1
Si	8 (66.7)	4 (33.3)		1.55(0.69-3.50)
Amplificación			0.61	
No	18 (43.9)	23 (56.1)		1
Si	10 (50)	10 (50)		1.23(0.56-2.67)
Mut o amplif			0.48	
No	15 (42.9)	20 (57.1)		1
Si	15 (53.6)	13 (46.4)		1.29(0.63-2.67)

6.3.1.7 Variables relacionadas con la evolución

Con respecto a las variables relacionadas con la evolución, las que influyeron sobre la supervivencia global fueron:

- La presencia de recidiva triplicó el riesgo de morir.
- El tiempo hasta la recidiva influye significativamente sobre la supervivencia. A mayor tiempo hasta la recidiva menor riesgo de morir (HR=0.92;IC(95%)=0,86-0,98).
- El número de tumores que padezca el paciente (en toda su vida hasta el fin de nuestro estudio) también influyó sobre la supervivencia global de forma significativa. Cada nuevo tumor multiplica por 1.59 el riesgo de morir.

Tabla 87. Influencia de las variables relacionadas con la evolución sobre la supervivencia global

VARIABLES	ÉXITOS			UNIVARIANTE
EVOLUCIÓN	Si(n=31)	No(n=35)	P	HR (IC 95%)
Recidiva			0.002	
No	15 (42.9)	30 (57.1)		1
Si	16 (76.2)	5 (23.8)		3.09(1.51-6.30)
Tipo recidiva2			0.11	
Local	8 (66.7)	4 (33.3)		1
Otros	8 (88.9)	1 (11.1)		2.32(0.83-6.52)
Tiempo hasta recidiva	14.74±14.90	24.43±10.69	0.02	0.92(0.86-0.98)
Tumores no CyC	0.42±0.50	0.17±0.38	0.13	1.74(0.85-3.56)
Nº tumores	1.90±1.04	1.29±0.71	0.007	1.59(1.14-2.23)

6.3.1.8 Análisis multivariante

Ajustando por aquellas variables que resultaron estadísticamente significativas en el análisis bivariante o aquellas con relevancia clínica (tabla 88), se objetiva que las variables con efecto independiente para modificar la supervivencia global son los márgenes, el valor T recodificado (precoz vs avanzado) y la ocurrencia de recidiva tumoral. El hecho de que los márgenes estén afectos multiplica por 8,84 (IC(95%)=2,90-26,92) el riesgo de muerte con respecto a aquellos pacientes con márgenes libres. Los tumores T avanzados muestran casi el triple de riesgo de muerte que los tumores T precoces (HR=2,65;IC(95%)=1,20-5,89). El hecho de presentar recidiva tumoral triplica el riesgo de muerte (HR=3,13;IC(95%)=1,32-7,40). Por cada unidad que aumente el número de tumores, se multiplica el riesgo de muerte por 1.57, encontrándose este factor en el límite de la significación ($p=0.066$).

Tabla 88. Modelo 1 de regresión de Cox multivariante para supervivencia global

	B	E.T.	Sig.	HR	IC (95 %) para HR	
Edad	,013	,017	,440	1,014	,979	1,049
Sexo (ref: mujer)	,658	,450	,144	1,930	,799	4,662
Márgenes próximos (ref: libres)	1,204	,658	,067	3,334	,918	12,110
Márgenes afectos (ref: libres)	2,180	,568	,000	8,844	2,905	26,925
Trec avanzado (ref: precoz)	,976	,407	,016	2,654	1,195	5,893
Número de tumores	,454	,247	,066	1,574	,971	2,553
Recidiva si (ref: no)	1,141	,439	,009	3,129	1,323	7,401

Al ajustar de nuevo el modelo anterior (tabla 89), eliminando las variables edad y sexo por no resultar significativas, se objetiva que tanto los márgenes como el valor T recodificado, el número de tumores y la ocurrencia de recidiva tienen un efecto independiente para predecir el riesgo de muerte en pacientes con carcinoma epidermoide oral. En este modelo no sólo influyen de forma independiente los márgenes afectos sino también los márgenes próximos, que multiplicarían por 4,38 el riesgo de muerte respecto a los márgenes libres (IC(95%)=1,31-14,67). En este modelo, los márgenes afectos multiplicarían el riesgo de muerte por 8,12 (IC(95%)=2,85-23,04); el T avanzado multiplicaría por 2,74 ese mismo riesgo (IC(95%)=1,25-6,02); el aumento en una unidad en el nº de tumores multiplicaría por 1,67 (IC(95%)=1,08-2,60); y la ocurrencia de recidiva multiplicaría por 2,67 el riesgo de muerte (IC(95%)=1,17-6,03).

Tabla 89. Modelo 2 de regresión de Cox multivariante para supervivencia global

	B	E.T.	Sig.	HR	IC (95 %) para HR	
Márgenes próximos (ref: libres)	1,477	,617	,017	4,381	1,309	14,668
Márgenes afectos (ref: libres)	2,094	,532	,000	8,116	2,858	23,041
Trec avanzado (ref: precoz)	1,008	,401	,012	2,741	1,249	6,016
Número de tumores	,515	,225	,022	1,673	1,077	2,599
Recidiva si (ref: no)	,977	,418	,019	2,657	1,171	6,031

6.3.2 Supervivencia específica

Considerando como muerte específica la muerte por el cáncer objeto de estudio, se obtiene una supervivencia específica de un 76,6% a los 3 años y de un 74,6% a los 5 años. Podemos ver reflejada la supervivencia específica acumulada en la tabla 90 y en la figura 57.

Tabla 90. Supervivencia específica

TIEMPO (meses)	SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA – Kaplan-Meier
12	95.2
24	76.6
36	76.6
60	74.6
84	69.9

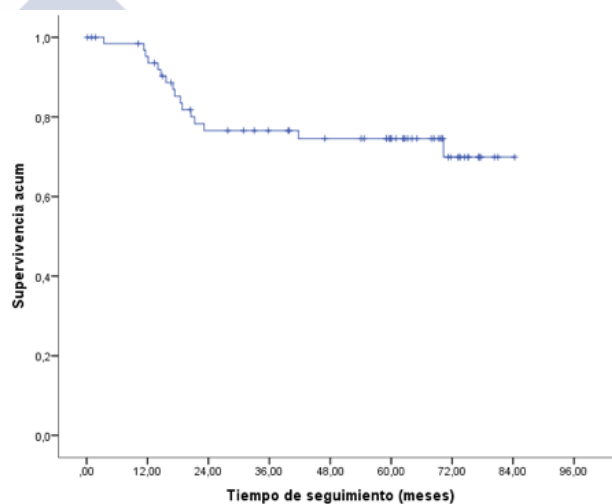


Figura 57. Supervivencia específica (muerte por carcinoma epidermoide oral)

6.3.2.1 Variables demográficas

Ni la edad ni el sexo influyeron significativamente en la supervivencia específica (tabla 91).

Tabla 91. Influencia de las variables demográficas sobre la supervivencia específica

VARIABLES	Muerte por carc epid oral		P	UNIVARIANTE HR (IC 95%)
	SI (n=16) Media ± DT	NO (n=50) Media ± DT		
DEMOGRÁFICAS				
Edad	69.05±13.26	67.27±11.81	0.39	1.02(0.98-1.06)
Sexo			0.87	
Mujer	6 (22.2)	21 (77.8)		1
Hombre	10 (25.6)	29 (74.4)		0.39-3.00)

6.3.2.2 Variables relacionadas etiológicas

Tampoco las variables etiológicas influyeron significativamente en la supervivencia específica, como podemos ver reflejado en los datos de la tabla 92.

Tabla 92. Influencia de las variables etiológicas sobre la supervivencia específica

VARIABLES	Muerte por carc epid oral		P	UNIVARIANTE
	SI (n=16)	NO (n=50)		
ETIOLÓGICAS	Media ± DT	Media ± DT		HR (IC 95%)
Tabaco2			0.89	
No fumador	10 (32.3)	21 (67.7)		1
Fumador	11 (31.4)	24 (68.6)		1.04(0.64-1.69)
Alcohol2			0.76	
No bebedor	12 (37.5)	20 (62.5)		1
Bebedor	9 (26.5)	25 (73.5)		1.08(0.66-1.75)
Lesiones precancerosas			0.82	
No	17 (38.6)	37 (61.4)		1
Si	4 (33.3)	8 (66.7)		1.16(0.33-4.08)

6.3.2.3 Variables clínicas

De todas las variables clínicas, sólo influyó en la supervivencia el diámetro máximo de la lesión (tabla 93), de modo que a medida que aumenta el diámetro máximo se duplica, aproximadamente, la probabilidad de muerte específica (HR=1.94).

Tabla 93. Influencia de las variables clínicas sobre la supervivencia específica

VARIABLES	Muerte por carc epid oral		P	UNIVARIANTE
	SI (n=16)	NO (n=50)		
CLÍNICAS	Media ± DT	Media ± DT		HR (IC 95%)
Charlson crudo	2.57±0.93	2.40±0.62	0.31	1.36(0.75-2.48)
Charlson ajustado	4.95±1.75	4.73±1.42	0.35	1.17(0.84-1.63)
Diámetro máximo	3.20±1.40	2.52±1.31	0.000	1,94(1.34-2.81)
Tiempo evolución	8.23±7.31	8.23±18.82	0.77	0.99(0.94-1.05)
Localización.rec			0.44	
Orofaringe	1 (14.3)	6 (85.7)		1
Cavidad oral	20 (33.9)	39 (76.1)		2.23(0.29-16.96)
Aspecto macroscópico			0.78	
No úlcera	4 (30.8)	9 (69.2)		1
Úlcera	17 (32.7)	35 (67.3)		0.85(0.27-2.64)

6.3.2.4 Variables relacionadas con el tratamiento

Entre las variables relacionadas con el tratamiento, podemos ver que las que influyen significativamente sobre la supervivencia específica serían:

- Tipo de reconstrucción: el realizar un gran colgajo (regional o libre) multiplica el riesgo de muerte por 2,2 respecto a no realizar colgajo o hacer un colgajo local.
- Tiempo de ingreso: cada día de ingreso el riesgo de morir por el carcinoma epidermoide oral aumenta un 4%.

Tabla 94. Influencia de las variables relacionadas con el tratamiento sobre la supervivencia específica

	Muerte por carc epid oral			
VARIABLES	SI (n=16)	NO (n=50)		UNIVARIANTE
TRATAMIENTO	Media ± DT	Media ± DT	P	HR (IC 95%)
Tipo tratamiento2			0.07	
Cirugía	10 (21.7)	36 (78.3)		1
Otros	11 (55)	9 (45)		1.67(0.96-2.90)
Resección.rec			0.24	
Tejidos blandos	11 (26.8)	30 (73.2)		1
Resección ósea	8 (34.8)	15 (65.2)		1.88(0.65-5.44)
Reconstrucción2			0.004	
Cierre directo-colg local	11 (25.6)	32 (74.4)		1
Colg regional-libre	8 (38.1)	13 (61.9)		2.20(1.28-3.78)
Vaciamiento cervical			0.43	
No	7 (26.9)	19 (73.1)		1
Si	12 (31.6)	26 (68.4)		1.59(0.50-5.08)
Traqueotomía			0.26	
No	9 (23.7)	29 (76.3)		1
Si	10 (38.5)	16 (61.5)		1.83(0.64-5.24)
Traqueotomía			0.97	
Programada	8 (36.4)	14 (63.6)		1
Urgente	2 (50)	2 (50)		0.96(0.11-7.97)
Complicaciones PO			0.34	
No	12 (27.3)	32 (72.7)		1
Si	7 (35)	13 (75)		1.71(0.57-5.10)
Complicaciones herida/colgajo			0.41	
No	15 (28.3)	38 (71.7)		1
Si	4 (40)	6 (60)		1.70(0.47-6.11)
Tiempo ingreso(días)	13.21±14.32	10.80±13.58	0.02	1.04(1.01-1.08)

6.3.2.5 Variables relacionadas con el estudio histológico

En la tabla 95 podemos ver cómo influyen las variables relacionadas con el estudio histológico en la supervivencia específica. Tanto la afectación de los márgenes como la afectación ganglionar, la invasión extracapsular, la invasión perivascular, el T tumoral recodificado (precoz versus avanzado) y el estadiaje tumoral recodificado (precoz versus avanzado), influyeron significativamente en la supervivencia específica

Tabla 95. Influencia de las variables relacionadas con el estudio histológico sobre la supervivencia específica

VARIABLES	Muerte por carc epid oral		P	UNIVARIANTE HR (IC 95%)
	Si(n=16)	No(n=50)		
HISTOLÓGICAS	Media ± DT	Media ± DT		
Márgenes			0.001	
Libres	12(23.5)	39(76.5)		1
Próximos	4(66.7)	2(33.3)	0.001	8.22(2.37-28.48)
Afectos	3(42.9)	4(57.1)	0.007	6.66(1.68-26.38)
Afectación ósea			0.13	
No	14 (29.2)	34 (70.8)		1
Si	5 (31.2)	11 (68.8)		2.35(0.79-7.05)
Grado diferenciación			0.41	
BD	3 (16.7)	15 (83.3)		1
MD	15 (36.6)	26 (63.4)	0.46	1.63(0.45-5.93)
PD	2 (50)	2 (50)	0.18	3.41(0.57-20.42)
Afectación ganglionar			0.02	
No	9 (20)	36 (80)		1
Si	10 (52.6)	9 (47.4)		3.70(1.28-10.71)
Invasión extracapsular			0.015	
No	25 (42.4)	34 (57.6)		1
Si	4 (25)	1 (75)		4.12(1.32-12.81)
Invasión perineural			0.12	
No	15 (25.9)	43 (74.1)		1
Si	4 (66.7)	2 (33.3)		2.74(0.76-9.84)
Invasión perivascular			0.02	
No	14 (24.6)	43 (75.4)		1
Si	5 (71.4)	2 (28.6)		4.24(1.31-13.72)
Trec			0.01	
Precoz (1 y 2)	13 (28.3)	33 (71.7)		1
Avanzado (3 y 4)	8 (40)	12 (60)		3.83(1.43-10.24)
pEstadiaje.rec			0.01	
Precoz (I y II)	7 (21.2)	26 (78.8)		1
Avanzado (III y IV)	14 (42.4)	19 (57.6)		4.21(1.26-13.09)

6.3.2.6 Variables relacionadas con el estudio genómico

Ni la mutación ni la amplificación de PIK3CA influyeron significativamente en la supervivencia específica; tampoco agrupando mutaciones y amplificaciones la presencia de una u otra influyó de forma significativa en la supervivencia (tabla 96).

Tabla 96. Influencia de las variables relacionadas con el estudio genómico sobre la supervivencia específica

	Muerte por carc epid oral			
VARIABLES	Si(n=16)	No(n=50)		UNIVARIANTE
GENÓMICA	Media ± DT	Media ± DT	P	HR (IC 95%)
Mutación			0.25	
No	16 (30.8)	36 (69.2)		1
Si	5 (41.7)	7 (58.3)		1.87(0.65-5.40)
Amplificación			0.26	
No	11 (26.8)	30 (73.2)		1
Si	7 (70)	13 (30)		1.79(0.65-4.95)
Mut o amplif			0.18	
No	10 (28.6)	25 (71.4)		1
Si	10 (35.7)	18 (64.3)		2.01(0.73-5.55)

6.3.2.7 Variables relacionadas con la evolución

Con respecto a las variables relacionadas con la evolución, en la tabla 97 podemos ver su influencia sobre la supervivencia específica. Tanto la presencia de recidiva como el tipo de recidiva y el tiempo hasta que ésta se produce influyeron significativamente en la supervivencia. El tener una recidiva multiplicaría el riesgo de morir por 12; cuanto más tarde aparece la recidiva, menor riesgo de morir por carcinoma epidermoide oral; que esta recidiva no sea exclusivamente local multiplica el riesgo de muerte por 2,7.

Tabla 97. Influencia de las variables relacionadas con la evolución sobre la supervivencia específica

	Muerte por carc epid oral			
VARIABLES	Si(n=16)	No(n=50)		UNIVARIANTE
EVOLUCIÓN	Media ± DT	Media ± DT	P	HR (IC 95%)
Recidiva			0.000	
No	6 (13.3)	39 (86.7)		1
Si	15 (71.4)	6 (28.6)		11.99(3.39-42.38)
Tipo recidiva2			0.04	
Local	7 (58.3)	5 (41.7)		1
Otros	8 (88.9)	1 (11.1)		2.70(1.02-7.13)
Tiempo hasta recidiva	14.77±15.42	22.75±10.40	0.03	0.92(0.85-0.99)
Tumores noCyC	0.48±0.51	0.20±0.40	0.53	1.38(0.50-3.80)
Nº tumores	2.05±1.12	1.36±0.74	0.53	1.38(0.50-3.80)

6.3.2.8 Análisis multivariante

Ajustando por aquellas variables que resultaron estadísticamente significativas en el análisis bivalente o aquellas con relevancia clínica (tabla 98), se objetiva que las variables con efecto independiente para modificar la supervivencia específica por carcinoma epidermoide oral son los márgenes, el valor T recodificado (precoz vs avanzado) y la ocurrencia de recidiva tumoral. El hecho de que los márgenes estén próximos multiplica por 11,55 el riesgo de muerte por carcinoma epidermoide oral respecto a que los márgenes estén libres (IC(95%)=1,23-108,00); el que los márgenes estén afectados multiplica este mismo riesgo por 33,22 (IC(95%)=2,67-412,56). Los tumores T avanzados muestran casi 6 veces más riesgo de muerte por carcinoma epidermoide oral que los tumores T precoces (HR=5,98;IC(95%)=1,44-24,81). El hecho de presentar recidiva tumoral triplica el riesgo de muerte (HR=3,13;IC(95%)=1,32-7,40). Por cada unidad que aumente el número de tumores, se multiplica por 88 el riesgo de morir por un carcinoma epidermoide oral (IC(95%)=6,59-1192,83).

Tabla 98. Modelo 1 de regresión de Cox multivariante para supervivencia específica

	B	E.T.	Sig.	HR	IC (95 %) para HR	
Edad	-,025	,034	,465	,975	,911	1,043
Sexo (ref: mujer)	1,110	,840	,187	3,034	,584	15,751
Invasión perivascular si (ref: no)	-,090	,863	,917	,914	,169	4,958
Afectación ganglionar si (ref: no)	,517	1,083	,633	1,678	,201	14,009
Márgenes próximos (ref: libres)	2,447	1,141	,032	11,550	1,235	108,002
Márgenes afectados (ref: libres)	3,503	1,285	,006	33,221	2,675	412,558
Trec avanzado (ref: precoz)	1,789	,726	,014	5,981	1,442	24,813
Recidiva si (ref: no)	4,485	1,326	,001	88,634	6,586	1192,826

Ajustando por las variables anteriores pero sin tener en cuenta la edad y el sexo (tabla 100), se objetiva que no hay cambios relevantes respecto al modelo anterior; siguen teniendo efecto independiente para predecir el riesgo de muerte por carcinoma epidermoide oral los márgenes, el T recodificado y la ocurrencia de recidiva tumoral. En este caso los márgenes próximos multiplican este riesgo por 7,83 (IC(95%)=1,37-44,69); los márgenes afectados multiplican por 10,59 (IC(95%)=2,09-53,65); el T avanzado multiplica por 4,73 (IC(95%)=1,25-17,95); y la ocurrencia de recidiva multiplica por 52,42 (IC(95%)=6,05-454,04).

Tabla 99. Modelo 2 de regresión de Cox multivariante para supervivencia específica

	B	E.T.	Sig.	HR	IC (95 %) para HR	
Invasión perivascular si (ref: no)	,122	,835	,884	1,129	,220	5,799
Afectación ganglionar si (ref: no)	1,115	,887	,209	3,050	,536	17,361
Márgenes próximos (ref: libres)	2,059	,888	,020	7,835	1,374	44,690
Márgenes afectados (ref: libres)	2,360	,828	,004	10,595	2,092	53,653
Trec avanzado (ref: precoz)	1,554	,680	,022	4,731	1,247	17,953
Recidiva si (ref: no)	3,959	1,102	,000	52,416	6,051	454,040

6.3.3 Recidiva

La supervivencia para la recidiva fue de un 85,7% al año; 67,1% a los 3 años; y 65% a los 5 años (tabla 100, figura 58).

Tabla 100. Supervivencia para recidiva

TIEMPO (meses)	SUPERVIVENCIA RECIDIVA – Kaplan-Meier
12	85.7
24	70.7
36	67.1
60	65.0
84	61.9

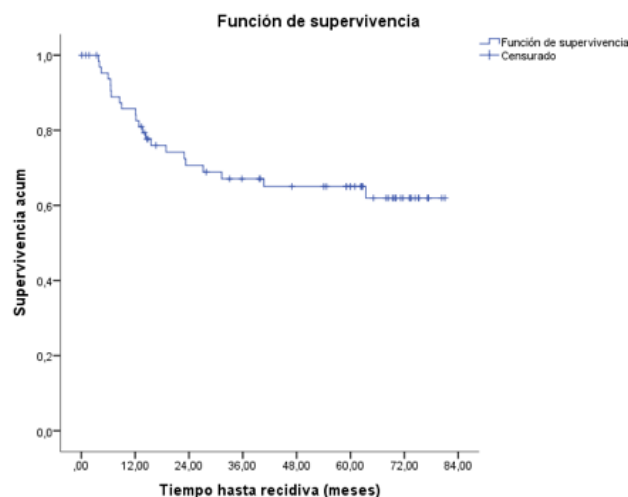


Figura 58. Supervivencia para recidiva

La forma de distribuirse la aparición de las recidivas en función del tiempo puede verse reflejada en la figura 59. La mayor parte de las recidivas se producen en los primeros dos años, siendo pocas las recidivas que se producen pasados los 3 años del inicio del tratamiento. A los 12 meses se han producido el 41% de todas las recidivas. A los 2 años han recidivado un 82% de todos los que recidivan. A los 3 años, el 91%. Todas las recidivas de nuestra muestra se detectaron antes de cumplirse los 64 meses de seguimiento.

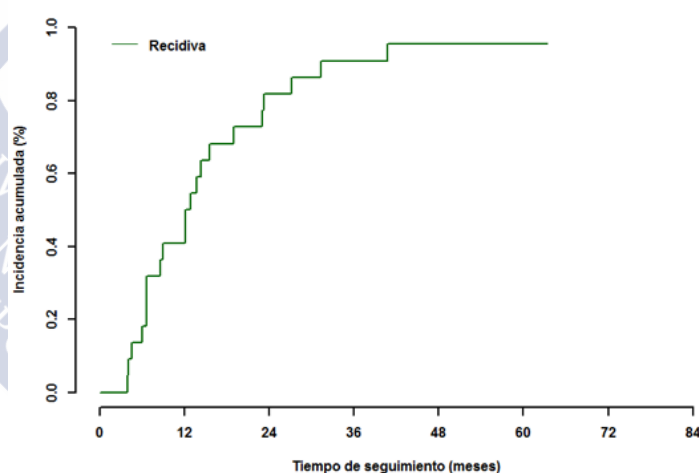


Figura 59. Distribución de las recidivas en el tiempo

6.3.3.1 Variables demográficas

Ni la edad ni el sexo influyeron significativamente en la aparición de recidiva (tabla 101).

Tabla 101. Influencia de las variables demográficas sobre la supervivencia recidiva

VARIABLES	Recidiva		P	UNIVARIANTE
	SI (n=22)	NO (n=45)		
DEMOGRÁFICAS	Media ±DT	Media ±DT		HR (IC 95%)
Edad	66.50±12.66	68.09±12.22	0.98	1.00(0.97-1.04)
Sexo			0.56	
Mujer	10 (37)	17 (63)		1
Hombre	12 (30)	28 (70)		1.28(0.55-2.97)

6.3.3.2 Variables etiológicas

Tampoco el consumo de alcohol, tabaco o la presencia de lesiones precancerosas influyeron significativamente en la recidiva (tabla 102).

Tabla 102. Influencia de las variables etiológicas sobre la supervivencia recidiva

VARIABLES ETIOLÓGICAS	Recidiva		P	UNIVARIANTE HR (IC 95%)
	SI (n=22) Media \pm DT	NO (n=45) Media \pm DT		
Tabaco2			0.88	
No fumador	10 (32.3)	21 (67.7)		1
Fumador	12 (33.3)	24 (66.7)		1.07(0.46-2.48)
Alcohol2			0.90	
No bebedor	11 (33.3)	22 (66.7)		1
Bebedor	11 (32.4)	23 (7.68)		0.95(0.141-2.19)
Lesiones precancerosas			0.46	
No	17 (30.9)	38 (69.1)		1
Si	5 (41.7)	7 (58.3)		1.46(0.54-3.97)

6.3.3.3 Variables clínicas

Entre todas las variables clínicas, sólo influyó de forma significativa en el desarrollo de recidivas el diámetro máximo de la lesión (tabla 103). Por cada cm que aumenta el diámetro máximo, el riesgo de muerte se multiplica por 1,39.

Tabla 103. Influencia de las variables clínicas sobre la supervivencia recidiva

VARIABLES CLÍNICAS	Recidiva		P	UNIVARIANTE HR (IC 95%)
	SI (n=22) Media \pm DT	NO (n=45) Media \pm DT		
Charlson crudo	2.55 \pm 0.86	2.42 \pm 0.66	0.24	1.37(0.81-2.33)
Charlson ajustado	4.73 \pm 1.72	4.82 \pm 1.42	0.70	1.06(0.79-1.41)
Diámetro máximo	2.93\pm1.44	2.65\pm1.32	0.05	1.39(1.00-1.94)
Tiempo evolución	10.58 \pm 23.02	6.30 \pm 6.83	0.29	1.01(0.99-1.03)
Localización.rec			0.82	
Orofaringe	3(42.9)	4 (57.1)		1
Cavidad oral	19 (31.7)	41 (68.3)		0.87(0.26-2.93)
Aspecto macroscópico			0.41	
Non ulceroso	6 (46.2)	7 (53.8)		1
Ulceroso	15 (28.3)	38 (71.7)		0.67(0.26-1.73)

6.3.3.4 Variables relacionadas con el tratamiento

Como podemos ver en la tabla 104, ninguna de las variables relacionadas con el tratamiento demostró una significación estadística en el estudio de recidiva

Tabla 104. Influencia de las variables relacionadas con el tratamiento sobre la supervivencia recidiva

VARIABLES	Recidiva		P	UNIVARIANTE HR (IC 95%)
	SI (n=22)	NO (n=45)		
TRATAMIENTO	Media \pm DT	Media \pm DT		
Tipo tratamiento²			0.86	
Cirugía	15 (40.5)	32 (59.5)		1
Otros	7 (35)	13 (65)		1.08(0.44-2.66)
Resección.rec			0.78	
Tejidos blandos	15 (35.7)	27 (64.3)		1
Resección ósea	7 (30.4)	16 (69.6)		1.14(0.46-2.80)
Reconstrucción²			0.89	
Cierre dir-colg local	16 (36.4)	28 (63.6)		1
Colg reg-libre	6 (28.6)	15 (61.4)		1.07(0.42-2.73)
Vaciamiento cervical			0.82	
No	9 (34.6)	17 (65.4)		1
Si	13 (33.3)	26 (66.7)		0.91(0.39-2.12)
Traqueotomía			0.61	
No	13 (33.3)	26 (66.7)		1
Si	9 (34.6)	17 (65.4)		1.25(0.53-2.92)
Traqueotomía			0.55	
Programada	7 (31.8)	15 (68.2)		1
Urgente	2 (50)	2 (50)		1.61(0.33-7.79)
Complicaciones PO			0.78	
No	16 (35.6)	29 (64.4)		1
Si	6 (30)	14 (70)		1.14(0.45-2.93)
Complicaciones herida/colgajo			0.94	
No	19 (35.2)	35 (64.8)		1
Si	3 (30)	7 (70)		1.05(0.31-3.53)
Tiempo ingreso(días)	10.41 \pm 13.53	12.00 \pm 13.81	0.62	1.01(0.97-1.04)

6.3.3.5 Variables relacionadas con el estudio histológico

En la tabla 105 podemos ver la influencia de las variables histológicas en el desarrollo de recidivas. Sólo los márgenes y la invasión extracapsular presentaron significación estadística; la presencia de márgenes próximos multiplica por 4 el riesgo de presentar una recidiva tumoral; la invasión extracapsular multiplicó por 3 el riesgo de recidiva.

Tabla 105. Influencia de las variables relacionadas con el estudio histológico sobre la supervivencia recidiva

	Recidiva			
VARIABLES	SI (n=22)	NO (n=45)		UNIVARIANTE
HISTOLÓGICAS	Media ±DT	Media ±DT	P	HR (IC 95%)
Márgenes			0.05	
Libres	16 (30.8)	36 (69.2)		1
Próximos	4 (66.7)	2 (33.3)	0.02	3.90
Afectos	2 (28.6)	5 (71.4)	0.46	1.74
Afectación ósea			0.94	
No	18 (36.7)	31 (63.3)		1
Si	4 (25)	12 (75)		0.36(0.32-2.84)
Grado diferenciación			0.21	
BD	5 (26.3)	14 (73.7)		1
MD	13 (31.7)	28 (68.3)	0.70	1.23(0.44-3.45)
PD	3 (75)	1 (25)	0.09	3.44(0.82-14.49)
Afectación ganglionar			0.35	
No	14 (30.4)	32 (69.6)		1
Si	8 (42.1)	11 (57.9)		1.51(0.63-3.61)
Invasión extracapsular			0.044	
No	18 (30)	42 (70)		1
Si	4 (80)	1 (20)		3.06(1.03-9.08)
Invasión perineural			0.91	
No	20 (33.9)	39 (66.1)		1
Si	2 (33.3)	4 (66.7)		1.08(0.25-4.64)
Invasión perivascular			0.39	
No	19 (32.8)	39 (67.2)		1
Si	3 (42.9)	4 (57.1)		1.71(0.50-5.78)
Trec			0.53	
Precoz (1 y 2)	16 (34)	31 (66)		1
Avanzado (3 y 4)	6 (30)	14 (70)		1.35(0.53-3.46)
pEstadiaje.rec			0.78	
Precoz (I y II)	12 (35.3)	22 (64.7)		1
Avanzado (III y IV)	10 (30.3)	23 (69.7)		1.13(0.49-2.61)

6.3.3.6 Variables relacionadas con el estudio genómico

En cuanto al estudio genómico, vemos en la tabla 106 que sólo la presencia de amplificación de PIK3CA influye de forma significativa sobre la probabilidad de sufrir una recidiva tumoral, multiplicando por 2,64 el riesgo de que ésta se produzca. En la figura 60 podemos ver la función de supervivencia para recidiva en pacientes con carcinoma epidermoide con y sin amplificación de PIK3CA.

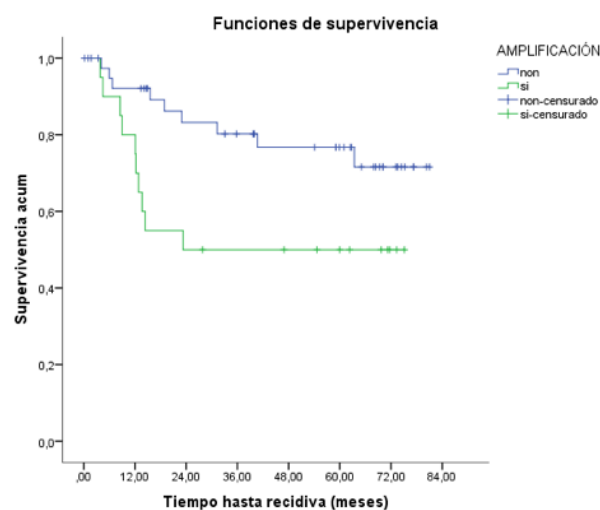


Figura 60. Función de supervivencia para recidiva en pacientes con y sin amplificación de PIK3CA.

Tabla 106. Influencia de las variables relacionadas con el estudio genómico sobre la supervivencia recidiva

VARIABLES	Recidiva		P	UNIVARIANTE
	SI (n=22)	NO (n=45)		
GENÓMICA	Media ±DT	Media ±DT		HR (IC 95%)
Mutación			0.54	
No	16 (30.2)	37 (69.8)		1
Si	5 (41.7)	7 (58.3)		1.37(0.50-3.76)
Amplificación			0.03	
No	9 (21.4)	33 (78.6)		1
Si	10 (50)	10 (50)		2.64(1.07-6.52)
Mut o amplif			0.13	
No	8 (22.2)	28 (77.8)		1
Si	12 (42.9)	16 (57.1)		2.02(0.82-4.95)

6.3.3.7 Análisis multivariante

Si introducimos en el modelo de regresión multivariante (tabla 107) las variables que obtuvieron significación estadística en el estudio de recidiva bivariado (diámetro máximo, márgenes y amplificación) y aquellas con relevancia clínica (edad y sexo), objetivamos que las variables con efecto independiente para predecir la mortalidad por recidiva son: tener márgenes próximos, amplificación e invasión extracapsular. En la Tabla 107 vemos que la presencia de márgenes próximos, multiplicando el riesgo de recidiva por 4,28, con respecto a aquellos con márgenes libres. La presencia de amplificación de PIK3CA, multiplica por 3,05 el riesgo de sufrir recidiva y aquellos con invasión extracapsular tienen 6.86 veces más riesgo de sufrir recidiva que los que no tienen dicha característica. También, aunque pierde la significación estadística en el sentido estricto, sigue rozándola el diámetro máximo, que multiplicaría por 1,44 el riesgo de recidiva (por cada cm de aumento del diámetro máximo).

Tabla 107. Modelo de regresión de Cox multivariante para supervivencia recidiva

	B	E.T.	Sig.	HR	IC (95 %) para HR	
Edad	0.028	0.024	0.249	1.028	0.981	1.078
Sexo (ref: mujer)	-0.442	0.489	0.356	0.643	0.246	1.676
Diámetro máximo	0.367	0.208	0.078	1.444	0.960	2.172
Márgenes próximos (ref: libres)	1.466	0.696	0.035	4.333	1.107	16.958
Márgenes afectados (ref: libres)	0.957	0.788	0.225	2.605	0.556	12.208
Amplificación si (ref: no)	1.116	0.538	0.035	3.053	1.085	8.592
Invasión extracapsular si (ref: no)	1.924	0.752	0.011	6.851	1.570	29.898

7. DISCUSIÓN





7. DISCUSIÓN

7.1 DE LA FRECUENCIA DE MUTACIONES Y AMPLIFICACIONES EN EL GEN PIK3CA

El primero en describir la mutación de PIK3CA en el carcinoma epidermoide de la cavidad oral (CEO) fue Qiu en el 2006, con una frecuencia del 10.8% (420). Después de este estudio, otros describieron distintas frecuencias de mutación de PIK3CA en el CEO, variando desde un 0% a un 21% (422, 423, 435, 450) (Tabla X). El porcentaje más alto de mutaciones de PIK3CA en el CEO fue de un 20.8% y lo publicó Qiu en el 2008, utilizando un nuevo método de secuenciación enriquecido (423). En el otro extremo están los estudios de Kostakis (450), Murugan (422) y Fenic (435), que no encontraron ninguna mutación de PIK3CA en sus series de CEO en pacientes griegos, vietnamitas y alemanes, respectivamente. Suda encontró un 2.6% de mutaciones en pacientes japoneses (451). Morris, un 6.4% en estadounidenses (427). Cohen, un 10.8% en israelíes (452). Zannarudin, un 5.7% en malayos (33). Stransky, un 8.1% y Agrawal, un 2.5%, ambos en pacientes estadounidenses (415, 416). Bruckman, un 3%, también en estadounidenses (453). Murugan, un 10.5% en taiwaneses (422). Chang, un 14% en taiwaneses, también (454). Kozaki encontró un 10.3% de mutaciones en tailandeses y un 4% en japoneses (428). En el 2015, Shah describió un 4% de mutaciones de PIK3CA en su serie de 50 carcinomas epidermoides orales en pacientes del Oeste de la India (484).

Tabla 108. Porcentajes de mutación PIK3CA en carcinomas epidermoides orales publicados en la literatura.

AUTOR	AÑO	% MUTACIÓN PIK3CA	POBLACIÓN
Qiu	2006	10.5	Estadounidenses
Kozaki	2006	10.3	Tailandeses
Kozaki	2006	4	Japoneses
Fenic	2007	0	Alemanes
Qiu	2008	20.8	Estadounidenses
Murugan	2008	10.5	Indios
Murugan	2008	0	Vietnamitas
Kostakis	2010	0	Griegos
Bruckman	2010	3	Estadounidenses
Agrawal	2011	2.5	Estadounidenses
Stransky	2011	8.1	Estadounidenses
Cohen	2011	10.8	Israelíes
Morris	2011	6.4	Estadounidenses
Suda	2012	2.6	Japoneses
Zannarudin	2013	5.7	Asiáticos
Chang	2014	13.97	Taiwaneses
Shah	2015	4	Oeste India

En nuestro estudio, el porcentaje de mutaciones en carcinomas epidermoides fue de un 18.5%, un porcentaje considerablemente alto si lo comparamos con los datos reflejados en la literatura por los distintos autores y sólo superado por el 20.8% publicado por Qiu en el 2008. Sin embargo, hay que destacar que el estudio de Qiu incluye 24 carcinomas epidermoides de faringe, sin especificar las distintas localizaciones dentro de la misma, por lo que probablemente no todos sean carcinomas epidermoides orales (423). También en otro estudio de Qiu, en el que incluye 38 carcinomas epidermoides de cabeza y cuello, encontramos un alto porcentaje de mutaciones de PIK3CA en cavidad oral, sin quedar clara la cifra exacta debido a que no especifica claramente cuántas muestras corresponderían a esta localización; el autor incluye 6 tumores de faringe, 8 de cavidad oral y 4 de “otras localizaciones”; encuentra 2 mutaciones en tumores de lengua, 1 de orofaringe y 2 “orales”, pero no queda claro cuál es el número de muestras de carcinomas epidermoides orales, por lo que no se puede saber exactamente el porcentaje de mutaciones en esta localización (420). El alto porcentaje de mutaciones de PIK3CA encontrado en nuestra población podría estar influido por factores étnicos, el método de detección de mutaciones utilizado u otras características de nuestra muestra poblacional.

Si desglosamos los datos obtenidos sobre la mutación de PIK3CA en nuestros pacientes, podemos ver que la frecuencia de la misma difiere mucho en las distintas localizaciones, desde no encontrar ninguna mutación en labio, base de lengua o paladar; hasta porcentajes de mutación de hasta el 50% en carcinomas epidermoides de mucosa yugal (tabla 109). En esta misma tabla podemos ver que el porcentaje de mutaciones más alto en carcinomas epidermoides se alcanzó en mucosa yugal, seguido de la encía.

Tabla 109. Porcentajes de mutación de PIK3CA en las distintas localizaciones, para el conjunto total de las muestras, lesiones precancerosas y carcinomas epidermoides.

LOCALIZACIÓN	GLOBAL	PRECÁNCER	CÁNCER
LABIO	0	0	0
LENGUA MÓVIL	16.1	27.3	10
BASE LENGUA	0	0	0
SUELO DE BOCA	0	0	0
MUCOSA YUGAL	31.2	25	50
ENCÍA	26.9	16.7	30
TRÍGONO	16.7	0	25
PALADAR	0	0	0
OROFARINGE	25	0	25

Si consideramos el grupo de lesiones precancerosas, el porcentaje de mutaciones encontrado fue incluso mayor que en carcinomas epidermoides; un 22,6% de las muestras presentaban una mutación en el gen PIK3CA. En las muestras de lengua móvil, este porcentaje alcanzó el 27,3%; y un 25% en mucosa yugal. No existen muchos trabajos que estudien la frecuencia de mutaciones de PIK3CA en lesiones precancerosas de la cavidad oral y en la literatura revisada ninguno reflejó una frecuencia tan alta como la encontrada en nuestro estudio. La mayor parte de trabajos sobre las alteraciones en PIK3CA en lesiones premalignas orales son sobre el aumento en el número de copias y la amplificación del gen (436).

En cuanto al porcentaje de amplificación, ya hemos comentado en la revisión bibliográfica cómo distintos autores han publicado distintas frecuencias de amplificación de PIK3CA en el CEO, que podemos ver sintetizados en la tabla X. Suda encontró un 2.6% de amplificaciones (451). Tu, un 49% (471). Fenic, un 9% (435). Kozaki, un 12% en taiwaneses y un 21% en japoneses (428). En pacientes españoles, Sequeiros-Santiago encontró un 38% de amplificaciones (472) y Pedrero, un 37% (431). El mayor porcentaje de amplificaciones de PIK3CA en el CEO lo describió Redon, un 66% (438).

Tabla 110. Porcentajes de amplificación PIK3CA en carcinomas epidermoides orales publicados en la literatura

AUTOR	AÑO	% AMPLIFICACIÓN PIK3CA	POBLACIÓN
Redon	2001	66.6	Franceses
Pedrero	2005	37	Españoles
Kozaki	2006	21	Tailandeses
Kozaki	2006	12	Japoneses
Fenic	2007	9	Alemanes
Sequeiros-Santiago	2009	38	Españoles
Tu	2011	44	Taiwaneses
Suda	2012	2.6	Japoneses

PIK3CA es el objetivo más probable para la amplificación de 3q26 (371, 392, 438). Más de la mitad de los CEO presentan una ganancia en el número de copias para el locus 3q26. Worsham encontró ganancia de PIK3CA en el 100% de líneas celulares de CEO (475). Distintos autores encontraron porcentajes mayores al 80% para la amplificación de 3q26 en carcinomas epidermoides orales. Patmore encontró un 82% en británicos (485). Liu, un 84% en taiwaneses (486). Bockmühl (445), un 87% en alemanes. El porcentaje mayor lo publicó Hashimoto, un 90% en pacientes japoneses (441).

En nuestro estudio, el porcentaje de amplificaciones de PIK3CA fue de un 32,3% en carcinomas epidermoides, un porcentaje algo más bajo que el encontrado por Pedrero y Sequeiros-Santiago en pacientes también españoles pero dentro de la media de los estudios publicados hasta la actualidad.

Sin embargo, si nos fijamos en los porcentajes de amplificación en cada una de las localizaciones (tabla 111), vemos que éste puede alcanzar el 50% en trigono y orofaringe, o incluso superarlo en base de lengua.

Tabla 111. Porcentajes de amplificación de PIK3CA en las distintas localizaciones, para el conjunto total de las muestras, lesiones precancerosas y carcinomas epidermoides.

LOCALIZACIÓN	GLOBAL	PRECÁNCER	CÁNCER
LABIO	0	0	0
LENGUA MÓVIL	16.1	0	25
BASE LENGUA	66.7	0	66.7
SUELO DE BOCA	28.6	0	28.6
MUCOSA YUGAL	44	42.9	25
ENCÍA	33.3	33.3	33.3
TRÍGONO	33.3	0	50
PALADAR	0	0	0
OROFARINGE	50	0	50

En cuanto a la amplificación en lesiones precancerosas, el porcentaje encontrado fue de un 19,2%, una cifra notablemente menor que en carcinomas epidermoides (32,3%). En las muestras obtenidas de mucosa yugal, el porcentaje de amplificación en lesiones precancerosas alcanzó un 42,9%, y un 33,3% en las de encía. No se encontró amplificación en ninguna de las lesiones precancerosas de la lengua móvil o del triángulo retromolar. Woenckhaus, ya en el 2002, describió la amplificación como un evento temprano en la carcinogénesis de los tumores de cabeza y cuello, encontrando un 14% de amplificaciones en displasias de alto grado y un 55% en carcinomas epidermoides (436). En el 2007, Fenic concluyó que tanto la ausencia de asociación entre la amplificación y el estadio T avanzado, como la alta frecuencia de amplificaciones de PIK3CA en lesiones precancerosas, nos sugiere que la amplificación representa un evento temprano en el desarrollo de los carcinomas epidermoides de cabeza y cuello, pero que no se selecciona específicamente en carcinomas invasivos avanzados, que contienen defectos genéticos que permiten transformaciones más agresivas (435).

Tabla 112. Porcentaje de alteraciones de PIK3CA (mutación o amplificación) y coexistencia de ambas en las distintas localizaciones en lesiones precancerosas

LOCALIZACIÓN	MUTACIÓN O AMPLIFICACIÓN	MUTACIÓN Y AMPLIFICACIÓN
LABIO	0	0
LENGUA MÓVIL	27.3	0
BASE LENGUA	0	0
SUELO DE BOCA	0	0
MUCOSA YUGAL	55.6	11.3
ENCÍA	50	0
TRÍGONO	0	0
PALADAR	0	0
OROFARINGE	0	0

Tabla 113. Porcentaje de alteraciones de PIK3CA (mutación o amplificación) y coexistencia de ambas en las distintas localizaciones en carcinomas epidermoides

LOCALIZACIÓN	MUTACIÓN O AMPLIFICACIÓN	MUTACIÓN Y AMPLIFICACIÓN
LABIO	0	0
LENGUA MÓVIL	35	0
BASE LENGUA	66.7	0
SUELO DE BOCA	28.6	0
MUCOSA YUGAL	50	25
ENCÍA	55	5
TRÍGONO	50	25
PALADAR	0	0
OROFARINGE	50	25

Si nos fijamos en las tablas 112 y 113, podemos ver el porcentaje de muestras que presentan alteraciones PIK3CA (ya sea mutación o amplificación) y el porcentaje de muestras en las que coexisten ambas alteraciones, para las distintas localizaciones, tanto en lesiones precancerosas como en carcinomas epidermoides. Para el conjunto de lesiones precancerosas, estos valores son 39,3% y 4,6%, respectivamente; y para carcinomas epidermoides, 43,7% y 6,5%, respectivamente. Vemos por tanto que los carcinomas epidermoides muestran mayor número de alteraciones de PIK3CA, así como mayor coexistencia de mutación y amplificación. En lesiones precancerosas, sólo en mucosa yugal se detecta la coexistencia de ambas alteraciones en la misma muestra. Sin embargo, en carcinomas epidermoides esto se produce en un 25% de las muestras de mucosa yugal, trigono y orofaringe, además de en un 5% de las de encía. Si consideramos los cambios genéticos en PIK3CA (mutación o amplificación), vemos que en carcinomas epidermoides PIK3CA presenta alteraciones en al menos el 50% de las muestras de la mayor parte de las localizaciones, lo que sólo ocurre en mucosa yugal y encía en lesiones precancerosas. Estos hechos confirman la teoría de que durante la transformación de lesiones precancerosas orales en tumores invasivos se produce un acúmulo secuencial de alteraciones genéticas. Tsui ya había encontrado que las ganancias y pérdidas genéticas eran más frecuentes en carcinomas epidermoides orales (65,2%) que en lesiones precancerosas (40%), indicando una progresión de la enfermedad (487). En nuestro caso, las diferencias entre cambios genéticos en lesiones precancerosas y carcinomas epidermoides no alcanzaron la significación estadística, aunque sí observamos una tendencia al aumento de los cambios en carcinomas epidermoides, sobre todo en el caso de la amplificación (32,3% en carcinomas frente a 19,2% en lesiones precancerosas). Hay que subrayar que en nuestras muestras sólo incluimos los cambios en PIK3CA. Salahs-hourifar, en el 2014, publicó una revisión en la que concluye que durante la progresión de esta enfermedad el acúmulo de cambios genéticos aumenta en términos de frecuencia, tipo y tamaño de las alteraciones, y que la ganancia en 3q (dentro del que se localiza PIK3CA) es uno de los cambios más frecuentemente observados, con un 36,5%, en los incluidos en su trabajo (488). Distintos artículos apoyan esta misma teoría del acúmulo secuencial de cambios genéticos durante la progresión de la displasia de bajo grado hasta el desarrollo de un carcinoma epidermoide oral (489-491). Al igual que en nuestro trabajo, Cha también encontró que el porcentaje de amplificación de PIK3CA en lesiones precancerosas y carcinomas epidermoides orales era altísimo (100% en carcinomas y 86% en displasias), pero no pudo encontrar diferencias estadísticamente significativas entre la amplificación en unos y otros (492).

7.2 DE LA ASOCIACIÓN ENTRE VARIABLES Y LA PRESENCIA DE MUTACIÓN/AMPLIFICACIÓN

7.2.1 Variables demográficas

Respecto a las variables demográficas, a pesar de que tanto la mutación como la amplificación fueron más frecuentes en varones, llegando incluso a duplicar la frecuencia de mutaciones en lesiones precancerosas a la frecuencia en mujeres, en ningún caso esta diferencia alcanzó la significación estadística. Distintos autores estudiaron la relación entre las alteraciones genéticas de PIK3CA y el sexo (428, 452, 454, 484), sin encontrar relación entre ambos. Stilo sí encuentra relación estadísticamente significativa entre el sexo femenino y la sobreexpresión de PIK3CA en su serie de 49 carcinomas epidermoides de lengua, pero no con la mutación o amplificación del gen (437). En cuanto a la edad, en nuestro estudio no podemos sacar conclusiones. Podemos ver que la media de edad en carcinomas epidermoides fue mayor en pacientes con mutación; en cambio, en los pacientes con carcinoma epidermoide y amplificación de PIK3CA la media de edad fue 4 años menor que en pacientes sin amplificación. Cohen y Shah tampoco encontraron asociaciones entre mutación y edad (452, 484).

7.2.2 Variables etiológicas

En cuanto al hábito tabáquico, nuestros resultados observan que tanto la mutación como la amplificación de PIK3CA son más frecuentes en pacientes no fumadores que en fumadores. En el caso de la amplificación, esta asociación alcanza la significación estadística en el grupo de lesiones precancerosas ($p=0,04$), actuando el tabaco como factor protector para la ocurrencia de amplificación de PIK3CA y reduciendo el riesgo de la misma a la mitad. Pero probablemente este hecho se trate de un factor confusor debido al pequeño tamaño muestral. En cambio, en el grupo de carcinomas epidermoides la frecuencia de amplificación es mayor en fumadores, sin llegar a ser significativo.

En cuanto al consumo de alcohol, los resultados tampoco son concluyentes, no encontrándose asociaciones significativas entre el consumo del mismo y las alteraciones de PIK3CA.

Estos resultados concuerdan con lo revisado en la literatura. En ningún estudio en carcinomas epidermoides orales se encuentran asociaciones entre los hábitos tabáquico o alcohólico y la mutación o amplificación de PIK3CA (428, 452, 454).

7.2.3 Variables clínicas

Si nos fijamos en ambos Charlson (crudo y ajustado) podemos observar que ambos son menores en pacientes con amplificación en el grupo de carcinomas epidermoides, rozando la significación estadística en el caso del Charlson ajustado ($p=0,08$); por tanto el Charlson actuaría como factor protector para la presencia de amplificación de PIK3CA, disminuyendo el riesgo de la misma un 30% por cada punto que aumente el Charlson ajustado. Si nos centramos la relación entre el Charlson y la presencia de cambios genéticos en PIK3CA (mutación o amplificación), para el grupo de carcinomas epidermoides, podemos encontrar una asociación

entre estos cambios y cualquiera de los dos Charlson (crudo y ajustado), actuando ambos como factores protectores para la ocurrencia de estos cambios ($p=0,03$ y $p=0,04$, respectivamente). Cada punto que aumente el Charlson crudo disminuye el riesgo de cambios genéticos de PIK3CA más de la mitad; en el caso del Charlson ajustado este riesgo disminuye un 30%. Esta asociación se mantiene en el modelo multivariante.

En cuanto a la localización de las lesiones, podemos observar que la mutación resulta más frecuente en las muestras de la cavidad oral, mientras que la amplificación es más frecuente en la orofaringe. Para el conjunto de todas las muestras, esta asociación entre amplificación y orofaringe se acerca a la significación estadística ($p=0,09$). Dentro de la cavidad oral, los porcentajes más altos de cambios genéticos PIK3CA se encuentran en mucosa yugal y encía (no significativo).

Vemos también que en los carcinomas epidermoides con mutación de PIK3CA el diámetro máximo es aproximadamente medio centímetro mayor que en carcinomas sin mutación, aunque esta diferencia no resulta significativa.

En los distintos trabajos revisados, ninguno encuentra relaciones estadísticamente significativas entre las variables clínicas y la mutación o amplificación de PIK3CA. Cohen, Kozaki y Shah estudiaron la asociación entre mutación de PIK3CA y la localización, no encontrando asociaciones entre ambas (428, 452, 484).

7.2.4 Variables de tratamiento

En lo relativo a las variables relacionadas con el tratamiento, no se encontró ninguna asociación con la mutación o la amplificación de PIK3CA. En cuanto a lo publicado hasta ahora por otros autores, sólo Chang indagó en esta relación, en su serie de 79 carcinomas epidermoides orales en pacientes taiwaneses, y tampoco encontró ninguna asociación (454).

7.2.5 Variables relacionadas con el análisis histológico

La mayor parte de estudios no encuentran asociaciones significativas entre las alteraciones de PIK3CA y los variables relacionadas con el estudio histológico. Lo más estudiado quizás sea la relación con el grado de diferenciación y el estadiaje tumoral.

El primer autor que encontró una asociación significativa entre el estadiaje tumoral y la mutación de PIK3C en carcinomas epidermoides orales fue Kozaki en el 2006 (428). Vio que la mutación del gen era más frecuente en los tumores en estadios IV que en estadios más precoces. En nuestra serie de 67 carcinomas epidermoides orales, el porcentaje de estadios avanzados (III y IV) fue mayor en pacientes con amplificación que en pacientes sin amplificación (55% frente a 47,6%), aunque esta diferencia no fue significativa. En el caso de la mutación de PIK3CA no se vio esta tendencia. Cohen, Shah y Pedrero, este último también con pacientes españoles, tampoco encontraron relación entre la mutación de PIK3CA y el estadiaje tumoral (452).

En cuanto al grado de diferenciación, Woenckhaus encontró asociación entre la alteración genética de 3q26 (en el que se encuentra PIK3CA) y el menor grado de diferenciación, pero no directamente con la alteración de PIK3CA. También encontró asociación entre la alteración de 3q26 y el estadiaje avanzado (436). En nuestro caso no encontramos asociación entre mutación o amplificación con el grado de diferenciación, lo que coincide con los artículos publicados hasta el momento en carcinomas epidermoides orales (428, 454, 484).

En el grupo de carcinomas epidermoides de nuestra serie, encontramos también una tendencia a un mayor porcentaje de tumores con T avanzado (3 y 4) entre los pacientes con amplificación de PIK3CA que en los que no presentan esta alteración (35% frente a 26,2%). Lo mismo ocurre con la afectación ganglionar, más frecuente en pacientes con amplificación de PIK3CA (40% frente a 27,5%). En ninguno de los dos casos las diferencias alcanzaron la significación estadística ($p=0,47$ y $p=0,33$, respectivamente). Chang, en su serie de 79 carcinomas epidermoides orales en pacientes taiwaneses, tampoco encontró asociación entre el T tumoral o la afectación ganglionar y la mutación de PIK3CA (454).

7.2.6 Variables relacionadas con el análisis genómico

En ninguno de los grupos se encontró asociación significativa entre mutación y amplificación de PIK3CA, coincidiendo con lo publicado por Kozaki en el 2006 (428)

7.2.7 Variables relacionadas con la evolución

En cuanto a las variables relacionadas con la evolución, globalmente podemos observar una clara tendencia a un peor pronóstico en los pacientes tanto con mutación como con amplificación de PIK3CA, aunque muy pocas variables alcanzan la significación estadística. Muy probablemente, esta tendencia podría hacerse estadísticamente significativa si ampliásemos el tamaño muestral.

- MUTACIÓN PIK3CA:

o Si nos centramos en el grupo de carcinomas epidermoides, vemos que la cohorte de pacientes mutados recidivan más que los no mutados (41,7% de recidivas frente a 30,2%); y que además los mutados recidivan casi 2m de media antes. En cuanto a la mortalidad, los pacientes con mutación mueren más (66,7% vs 44,2%; $p=0,16$); tanto la mortalidad específica por carcinoma epidermoide oral (41,7% vs 21,2%; $p=0,16$) como la mortalidad específica por cáncer (41,7% vs 30,8%) fueron mayores en los pacientes con mutación de PIK3CA. El tiempo de seguimiento fue aproximadamente 7,5 meses menor en los mutados que en los no mutados. Además, el porcentaje de pacientes que desarrollaron otros tumores fuera de la localización cabeza y cuello también fue mayor en el grupo de pacientes con mutación (33,3% vs 28,3%). Ninguna de estas asociaciones alcanzó la significación estadística.

o En el grupo de lesiones precancerosas, podemos destacar que el porcentaje de éxitus fue de un 28,6% en mutados frente a un 4,2% en no mutados ($p=0,12$). El porcentaje de pacientes que desarrollaron tumores en otras localizaciones distintas de cabeza y cuello fue mayor en mutados (28,6% vs 8,3%). Tampoco hubo diferencias estadísticamente significativas.

o Si consideramos el total de las muestras, podemos ver que la diferencia en el porcentaje de éxitus entre pacientes con y sin mutación se acerca a la significación estadística (52,6% vs 31,6%, $p=0,087$); la presencia de mutación multiplicaría por 2,4 el riesgo de morir.

- AMPLIFICACIÓN PIK3CA:

o Si nos centramos en el grupo de carcinomas epidermoides, encontramos diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de recidivas entre pacientes con y sin amplificación de PIK3CA (50% vs 21,4%, $p=0,02$). El tiempo hasta la recidiva es menor en pacientes con amplificación (casi 11m, $p=0,16$). El porcentaje de recidivas no exclusivamente locales fue mayor en pacientes con amplificación (60% vs 33,3%). Tanto el porcentaje de éxitus como la mortalidad específica por carcinoma epidermoide oral y la mortalidad específica por cáncer obtuvieron peores datos en pacientes con amplificación de PIK3CA (50% vs 43,9%; 35% vs 19,5%, $p=0,22$; y 35% vs 26,8%; respectivamente). El tiempo de seguimiento fue casi 5 meses menor en la cohorte de amplificados. El porcentaje de pacientes que desarrollaron otros tumores malignos fuera de la localización cabeza y cuello también fue mayor en pacientes con amplificación (35% vs 23,8%). En ninguna de las variables recogidas, salvo en la presencia de recidiva, las diferencias entre amplificación PIK3CA y no amplificación del mismo resultaron estadísticamente significativas.

o Con respecto a las lesiones precancerosas, sólo podemos destacar que un 20% de los que tenían amplificación desarrollaron otros tumores malignos lejos de cabeza y cuello, frente a un 14,3% en no amplificados, sin ser estadísticamente significativo.

o El análisis del grupo total de las muestras no nos aporta nada relevante respecto a lo ya expuesto para lesiones precancerosas y carcinomas por separado.

- MUTACIÓN O AMPLIFICACIÓN PIK3CA:

o Si en vez de considerar por separado la mutación y la amplificación de PIK3CA consideramos la presencia de alteraciones del mismo (ya sea mutación o amplificación), vemos que la diferencia en cuanto a mortalidad específica por carcinoma epidermoide oral se acerca a la significación estadística entre pacientes con y sin cambios en PIK3CA. Esto tanto en el conjunto total de las muestras como en el grupo de carcinomas epidermoides (25,6% vs 11,5%, $p=0,08$; y 35,7% vs 17,1%, $p=0,09$). En ambos casos el riesgo de muerte se multiplicaría por 2,6 en el caso de darse mutación o amplificación de PIK3CA.

7.3 DE LA SUPERVIVENCIA

En la literatura revisada, no se encontró ningún estudio que demostrase asociaciones significativas entre la mutación o la amplificación de PIK3CA y la supervivencia, tanto global como específica, ni con supervivencia recidiva (452, 454). En nuestro estudio, sí demostramos que la amplificación de PIK3CA influye de forma significativa en la recidiva ($p=0,03$), manteniéndose esta influencia casi rozando la significación estadística tras realizar el análisis multivariante ($p=0,054$).

7.3.1 Supervivencia global

La supervivencia global en el grupo de pacientes con carcinoma epidermoide alcanzó un 56,1% a los 5 años. Vázquez-Mahía, en un estudio realizado 10 años atrás con la misma población de referencia que la nuestra encontró una supervivencia global a los 5 años del 60,1%, ligeramente más alta aunque similar (61).

Las variables que influyeron de forma significativa en la supervivencia global en nuestro estudio fueron la edad ($p=0,03$), el Charlson ajustado ($p=0,02$), el diámetro máximo ($p=0,000$), el tipo de resección ($p=0,02$), los días de ingreso ($p=0,001$), los márgenes ($p=0,002$), la afectación ósea ($p=0,04$), el T tumoral ($p=0,01$), el estadiaje tumoral ($p=0,01$), la recidiva ($p=0,002$), el tiempo hasta la recidiva ($p=0,02$) y el número de tumores ($p=0,007$).

Tras el análisis multivariante, sólo mantuvieron su valor pronóstico independiente los márgenes, el T recodificado y la ocurrencia de recidiva.

No es objeto de este estudio el ahondar en la comparación de los datos obtenidos en este estudio en cuanto a las variables predictoras en términos de supervivencia global, específica y de recidiva, con los reflejados en la literatura por otros autores, por lo que nos centraremos en lo referente a la relación con los cambios genéticos de PIK3CA. A pesar de que durante el análisis bivalente hemos observado que los pacientes con mutación o amplificación de PIK3CA presentan una tendencia a un peor pronóstico que los que no presentan alteraciones en este gen, ni la mutación ($P=0,29$) ni la amplificación ($P=0,61$) influyeron de forma significativa sobre la supervivencia global. Estos resultados coinciden con lo publicado por otros autores en distintas series de carcinomas epidermoides orales de diversas poblaciones u etnias (452).

7.3.2 Supervivencia específica

La supervivencia específica (mortalidad por el carcinoma epidermoide oral objeto del estudio) en el grupo de pacientes con carcinoma epidermoide alcanzó un 74,6% a los 5 años, un porcentaje considerablemente alto en comparación con lo publicado en la literatura, aunque la mayor parte de estudios nos hablan de supervivencia global y no de supervivencia específica. Las variables que influyeron de forma significativa en la supervivencia específica fueron el diámetro máximo ($p=0,000$), el tipo de reconstrucción ($p=0,004$), los días de ingreso ($p=0,02$), los márgenes ($p=0,001$), la afectación ganglionar ($p=0,02$), la invasión extracapsular ($p=0,015$), la invasión perivascular ($p=0,02$), el T tumoral ($p=0,01$), el estadiaje tumoral ($p=0,01$), la recidiva ($p=0,000$), el tipo de recidiva ($p=0,03$) y el tiempo hasta la recidiva ($p=0,03$).

Tras el análisis multivariante, sólo mantuvieron su valor pronóstico independiente los márgenes, el T tumoral recodificado y la recidiva, perdiendo su valor predictivo la afectación ganglionar y la invasión perivascular.

En cuanto a la mutación y la amplificación de PIK3CA, ninguna de estas variables llegó a influir de forma significativa sobre la supervivencia específica, aunque la tendencia a tener un peor pronóstico es mayor que en el caso de la supervivencia global ($P=0,25$ para mutación; $P=0,18$ para mutación o amplificación).

7.3.3 Recidiva

La supervivencia para la recidiva en el grupo de pacientes con carcinoma epidermoide alcanzó un 65% a los 5 años. Las variables que influyeron significativamente en el desarrollo de recidiva fueron el diámetro máximo ($p=0,05$), los márgenes ($p=0,05$), la invasión extracapsular ($p=0,04$) y la presencia de amplificación de PIK3CA ($p=0,03$).

Tras el análisis multivariante mantuvieron su efecto predictor independiente los márgenes, la invasión extracapsular y la amplificación.

En toda la literatura revisada respecto a la mutación y amplificación de PIK3CA en el carcinoma epidermoide oral, no hemos encontrado ningún trabajo que encuentre una asociación significativa con la supervivencia para recidiva. Por tanto, este hallazgo resulta cuanto menos interesante por lo novedoso y por el impacto que podría tener en abordaje de esta patología.



8. CONCLUSIONES





8. CONCLUSIONES

- Tanto la mutación como la amplificación de PIK3CA son eventos frecuentes en los pacientes con lesiones precancerosas y carcinomas epidermoides de nuestra población. El porcentaje encontrado fue un 22,6% y un 18,5% de mutaciones en lesiones precancerosas y carcinomas epidermoides, respectivamente; y un 19,2% y un 32,3% de amplificaciones en lesiones precancerosas y carcinomas epidermoides, respectivamente.
- No existen asociaciones estadísticamente significativas entre la mutación o la amplificación de PIK3CA y la mayoría de las variables clínicas estudiadas en nuestra serie. Tampoco se encontró asociación entre la mutación y la amplificación de PIK3CA. Si podemos ver que el Charlson actuaría como factor protector para la ocurrencia de alteraciones en PIK3CA (mutación o amplificación) en carcinomas epidermoides, manteniéndose este efecto tras el análisis multivariante.
- Los pacientes con alteraciones de PIK3CA muestran una tendencia clara a un peor pronóstico que aquellos en los que PIK3CA no se encuentra alterado, aunque esta tendencia sólo alcanzó la significación estadística para la asociación entre amplificación de PIK3CA y la presencia de recidiva tumoral.
- La amplificación de PIK3CA (pero no la mutación) influyó significativamente en la supervivencia recidiva (pero no en las supervivencias global o específica), y su valor pronóstico se mantuvo tras realizar el análisis multivariante.
- Nuestros resultados sugieren que las alteraciones de PIK3CA probablemente jueguen un papel importante en la carcinogénesis y progresión del carcinoma epidermoide oral, por lo que moléculas inhibitoras dirigidas específicamente contra este gen podrían ser estudiadas para pasar a formar parte del armamentario terapéutico en esta patología. Además, dado que estos cambios también se producen precozmente en lesiones precancerosas, sería interesante estudiar la posibilidad de utilizar el gen PIK3CA como biomarcador, para predecir el riesgo de malignización de las mismas.



9. BIBLIOGRAFÍA





9. BIBLIOGRAFÍA

1. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000;100(1):57-70.
2. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin*. 2013;63:11-30.
3. Macfarlane GJ, Boyle P, Evstifeeva TV, Robertson C, Scully C. Rising trends of oral cancer mortality among males worldwide: the return of an old public health problem. *Cancer Causes Control*. 1994 May;5(3):259-65.
4. Baselga J, Trigo JM, Bourhis J, Tortochaux J, Cortes-Funes H, Hitt R, et al. Phase II multicenter study of the antiepidermal growth factor receptor monoclonal antibody cetuximab in combination with platinum-based chemotherapy in patients with platinum-refractory metastatic and/or recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol*. 2005 Aug 20;23(24):5568-77. PubMed PMID: 16009950. eng.
5. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, Azarnia N, Shin DM, Cohen RB, et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *The New England journal of medicine*. 2006 Feb 9;354(6):567-78. PubMed PMID: 16467544. eng.
6. Bourhis J, Overgaard J, Audry H, Ang KK, Saunders M, Bernier J, et al. Hyperfractionated or accelerated radiotherapy in head and neck cancer: a meta-analysis. *Lancet*. 2006 Sep 2;368(9538):843-54. PubMed PMID: 16950362. eng.
7. Forastiere AA, Goepfert H, Maor M, Pajak TF, Weber R, Morrison W, et al. Concurrent chemotherapy and radiotherapy for organ preservation in advanced laryngeal cancer. *The New England journal of medicine*. 2003 Nov 27;349(22):2091-8. PubMed PMID: 14645636. eng.
8. Moral M, Paramio JM. Akt pathway as a target for therapeutic intervention in HNSCC. *Histology and histopathology*. 2008 Oct;23(10):1269-78. PubMed PMID: 18712679. eng.
9. Patel V, Leethanakul C, Gutkind JS. New approaches to the understanding of the molecular basis of oral cancer. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2001;12(1):55-63.
10. Todd R, Donoff RB, Wong DT. The molecular biology of oral carcinogenesis: toward a tumor progression model. *J Oral Maxillofac Surg*. 1997 Jun;55(6):613-23.
11. Renan MJ. How many mutations are required for tumorigenesis? Implications from human cancer data. *Mol Carcinog*. 1993;7(3):139-46.
12. Garcia-Escudero R, Paramio JM. Gene expression profiling as a tool for basic analysis and clinical application of human cancer. *Mol Carcinog*. 2008 Aug;47(8):573-9. PubMed PMID: 18324660. eng.

13. GLOBOCAN 2002. Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide [Internet]. International Agency for Research on Cancer. 2004.
14. Kademani D. Oral cancer. *Mayo Clin Proc.* 2007 Jul;82(7):878-87.
15. Tsantoulis PK, Kastrinakis AD, Tourvas AD, Laskaris G, Gorgoulis VG. Advances in the biology of oral cancer. *Oral Oncol.* 2007 Jul;43(6):523-34.
16. Molinolo AA, Amornhimoltham P, Squarize CH, Castilho RM, Patel V, Gutkind SJ. Dysregulated molecular networks in head and neck carcinogenesis. *Oral Oncol.* 2009 Apr-May;45(4-5):324-34.
17. Haddad RI, Shin DM. Recent advances in head and neck cancer. *N Engl J Med.* 2008 Sep;359(11):1143-54.
18. Leemans CR, Braakhuis RH, Brakenhoff RH. The molecular biology of head and neck cancer. *Nat Rev Cancer.* 2011 Jan;11(1):9-22.
19. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011 Apr-May;61(2):9-90.
20. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin.* 2016 Jan;66(1):7-30.
21. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. International Agency for Research on Cancer. 2013.
22. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer.* 2015 Mar;136(5):E359-86.
23. Bray F, Ren JS, Masuyer E, Ferlay J. Estimates of global cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008. *Int J Cancer.* 2013 Mar;132(5):1133-45.
24. Murugan AK, Munirajan AK, Tsuchida N. Ras oncogenes in oral cancer: the past 20 years. *Oral Oncol.* 2012 May;48(5):383-92.
25. Secretan B, Straif K, Baan R, Grosse Y, El Ghissassi F, Bouvard V, et al. A review of human carcinogens-part E: tobacco, areca nut, alcohol, coal smoke, and salted fish. *Lancet Oncol.* 2009 Nov;10(11):1033-4.
26. Munirajan AK, Mohanprasad BKC, Shanmugam G, Tsuchida N. Detection of a rare point mutation at codon 59 and relatively high incidence of H-ras mutation in indian oral cancer. *Int J Oncol.* 1998;13:971-4.

27. Warnakulasuriya KA, Ekanayake AN, Sivayoham S, Stjernswärd J, Pindborg JJ, Sobin LH, et al. Utilization of primary health care workers for early detection of oral cancer and precancer cases in Sri Lanka. *Bull World Health Organ.* 1984;62(2):243-50.
28. Warnakulasuriya S, Sutherland G, Scully C. Tobacco, oral cancer and treatment of dependence. *Oral Oncol.* 2005 Mar;41(3):244-60.
29. Saranath D, Chang SE, Bhoite LT, Panchal RG, Kerr IB, Mehta AR, et al. High frequency mutation in codons 12 and 61 of H-ras oncogene in chewing tobacco-related human oral carcinoma in India. *Br J Cancer.* 1991 Apr;63(4):573-8.
30. Kannan K, Munirajan AK, Krishnamurthy J, Bhuvarahamurthy V, Mohanaprasad BKC, Panishankar KH, et al. Low incidence of p53 mutations in betel quid and tobacco chewing-associated oral squamous carcinoma from India. *Int J Oncol.* 1999 Dec;15(6):1133-6.
31. Reichart PA, Nguyen XH. Betel quid chewing, oral cancer and other oral mucosal diseases in Vietnam: a review. *J Oral Pathol Med.* 2008 Oct;37(9):511-4.
32. Murugan AK, Hong NT, Cuc TT, Hung NC, Munirajan AK, Ikeda MA, et al. Detection of two novel mutations and relatively high incidence of H-RAS mutations in vietnamese oral cancer. *Oral Oncol.* 2009 Oct;45(10):e161-6.
33. Zamaruddin SN, Yee PS, Hor SY, Kong YH, Ghani WM, Mustapha WM, et al. Common oncogenic mutations are infrequent in oral squamous cell carcinoma of asian origin. *PLoS One.* 2013 Nov;4;8(11):e280229.
34. Hindle I, Downer MC, Moles DR, Speight PM. Is alcohol responsible for more oral cancer? *Oral Oncol.* 2000 Jul;36(4):328-33.
35. Marugame T, Matsuda T, Kamo K, Katanoda K, Ajiki W, Sobue T, et al. Cancer incidence and incidence rates in Japan in 2001 based on the data from 10 population-based cancer registries. *Jpn J Clin Oncol.* 2007 Nov;37(11):884-91.
36. Franceschi S, Bidoli E, Herrero R, Muñoz N. Comparison of cancers of the oral cavity and pharynx worldwide: etiological clues. 2000 Jan;36(1):106-15.
37. Hammarstedt L, Lindquist D, Dahlstrand H, Romanitan M, Dahlgren LO, Joneberg J, et al. Human papillomavirus as a risk factor for the increase in incidence of tonsillar cancer. *Int J Oncol.* 2006 Dec;1;119(11):2620-3.
38. Chaturvedi AK, Engels EA, Anderson WF, Gillison ML. Incidence trends for human papillomavirus-related and unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. *J Clin Oncol.* 2008 Feb;1;26(4):612-9.
39. Binnie WH, Rankin KV, Mackenzie IC. Etiology of oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol.* 1983 Feb;12(1):11-29.

40. Wynder EL, Bross IJ, Feldman RM. A study of the etiological factors in cancer of the mouth. *Cancer*. 1957 Nov-Dec;10(6):1300-23.
41. Warnakulasuriya S. Living with oral cancer: epidemiology with particular reference to prevalence and life-style changes that influence survival. *Oral Oncol*. 2010 Jun;46(6):407-10.
42. McGregor GI, David N, Robins RE. Squamous cell carcinoma of the tongue and lower oral cavity in patients under 40 years of age. *Am J Surg*. 1983 Jul;146(1):88-92.
43. Vermund H, Brennhovd IO, Harvei S, Kaalhus O, Poppe E, Wiley AJ. Carcinoma of the tongue in Norway and Wisconsin I. Incidence and prognosis related to sex and age. *Acta Radiol Oncol*. 1982;21(3):155-68.
44. Son YH, Kapp DS. Oral cavity and oropharyngeal cancer in a younger population. Review of the literature and experience at Yale. *Cancer*. 1985 Jan;15;55(2):441-4.
45. Schantz SP, Byers RM, Goepfert H. Tobacco and cancer of the tongue in young adults. *JAMA*. 1988 Apr;259(13):1943.
46. Shemen LJ, Klotz J, Schottenfeld D, Strong EW. Increase of tongue cancer in young men. *JAMA*. 1984 Oct;252(14):1857.
47. Moller H. Changing incidence of cancer of the tongue, oral cavity and pharynx in Denmark. *J Oral Pathol Med*. 1988 Apr;18(4):224-9.
48. Macfarlane FJ, Boyle P, Scully C. Rising mortality from cancer of the tongue in young Scottish males. *Lancet*. 1987 Oct;17;28564:912.
49. Shiboski CH, Schmidt BL, Jordan RC. Tongue and tonsillar carcinoma: increasing trends in the US population ages 20-44 years. *Cancer*. 2005 May;1;103(9):1843-9.
50. Conway DI, Stockton DL, Warnakulasuriya KA, Ogden G, Macpherson LM. Incidence of oral and oropharyngeal cancer in the United Kingdom (1990-1999)-current status, recent trends and regional variation. *Oral Oncol*. 2006 Jul;42(6):586-92.
51. Waterhouse J, Shanmufaratnam K, Muir C, Powell J. Cancer incidence in five continents. Lyon, France 1982.
52. Registry TC. Cancer inequalities in London 2000-2004. Londres: TCR; 2007.
53. Conway DI, Petticrew M, Marlborough H, Berthiller J, Hashibe M, Macpherson LM. Socioeconomic inequalities and oral cancer risk: a systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Int J Cancer*. 2008 Jun;15;122(12):2811-9.
54. Salud OMDI. Clasificación estadística internacional de enfermedades y problemas relacionados con la salud: décima revisión (CIE-10) 2003.

55. Cancer AJCo. In: Greene FL, Page DL, Fleming ID, Fritz AG, Balch CM, Haller DG, et al., editors. Cancer Staging Manual. 6th ed: Springer-Verlag New York Berlin Heidelberg; 2002. p. 23-9.
56. Shah J. Cirugía oncológica de cabeza y cuello. 3ª edición.: Mosby; 2004.
57. Godoy MH, Tamanaha RA. Carcinoma epidermoide en cavidad oral. Rev Asoc Odontol Argent. 2003 Jun-Jul;91(3):190-3.
58. Health Mo. National cancer control programme, Sri Lanka. Cancer incidence data: Sri Lanka year 2000. 6ª ed. Maharagama: NCCP; 2005.
59. Sellars SL. Epidemiology of oral cancer. Otolaryngol Clin North AM. 1979 Feb;12(1):45-55.
60. Krolls SO, Hoffman S. Squamous cell carcinoma of the oral soft tissues: a statistical analysis of 13253 cases by age, sex and race of patients. J Am Dent Assoc. 1976 Mar;92(3):571-4.
61. Vázquez-Mahía I. Factores pronósticos, epidemiológicos, clinicopatológicos y terapéuticos del carcinoma eidermoide oral. Estudio de recidiva. Universidad de A coruña 2006.
62. La Vecchia C, Tavani A, Franceschi S, Levi F, Corrao G, Negri E. Epidemiology and prevention of oral cancer. Oral Oncol. 1997 Sep;33(5):302-12.
63. Betel-quid and areca-nut chewing and some areca-nut related nitrosamines. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2004;85:1-334.
64. Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, Austin DF, Greenberg RS, Preston-Martin S, et al. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. Cancer Res. 1988 Jun;1;48(11):3282-7.
65. Warnakulasuriya S. Food, nutrition and oral cancer. In: Wilson M, editor. Food constituents and oral health Current status and future prospects: Woodhead Publishing.
66. Herrero R, Castellsague X, Pawlita M, Lissouska J, Kee F, Ballaran P, et al. Human papillomavirus and oral cancer: the International Agency for Research on Cancer multicenter study. J Natl Cancer Inst. 2003 Dec;3;95(23):1772-83.
67. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, et al. Case control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. N Engl J Med. 2007 May;10;356(19):1944-56.
68. Meyer MS, Joshipura K, Giovannucci E, Michaud D. A review of the relationship between tooth loss, periodontal disease and cancer. Cancer Causes Control. 2008 Nov;19(9):895-907.
69. Thumfart W, Weidenbecher M, Waler G, Pesch HG. Chronic mechanical trauma in the aetiology of oro-pharyngeal carcinoma. J Maxillofac Surg. 1978 Aug;6(3):217-21.

70. Shilltoe EJ, Greenspan D, Greenspan JS, Silverman SJ. Five-year survival of patients with oral cancer and its association with antibody to herpes simplex virus. *Cancer*. 1986 Nov;15;58(10):2256-9.
71. Tytor M, Olofsson J, Ledin T, Brunk U, Klintenberg C. Squamous cell carcinoma of the oral cavity. A review of 176 cases with application of malignancy grading and DNA measurements. *Clin Otolaryngol Allied Sci*. 1990 Jun;15(3):235-52.
72. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Chi AC. *Oral and Maxillofacial Pathology*. Ed, editor: Elsevier Internacional; 2015.
73. Brugere J, Guenel P, Leclerc A, Rodríguez J. Differential effects of tobacco and alcohol in cancer of the larynx, pharynx and mouth. *Cancer*. 1986 Jan;57(2):391(5).
74. Elwood JM, Pearson JC, Skippen DH, Jackson SM. Alcohol smoking, social and occupational factors in the etiology of cancer of the oral cavity, pharynx and larynx. *Int J Cancer*. 1984 Nov;15;34(5):603-12.
75. Gandini S, Botteri E, Iodice S, Boniol M, Lowenfels AB, Maisonneuve P, et al. Tobacco smoking and cancer: a meta-analysis. *Int J Cancer*. 2008 Jan;1;122(1):155-64.
76. Hashibe M, Brennan P, Benhamou S, Castellsague X, Chen CC, M.P., Dal Maso L. Alcohol drinking in never users of tobacco, cigarette smoking in never drinkers, and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the international head and neck cancer epidemiology consortium. *J Natl Cancer Inst*. 2007 Nov;16;99(10):777-89.
77. Tobacco smoke and involuntary smoking. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. 2004;83:1-1438.
78. Rodu B, Jansson C. Smokeless tobacco and oral cancer: a review of the risks and determinants. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2004 Sep;1;15(5):252-63.
79. Weitkunat R, Sanders E, Lee PN. Meta-analysis of the relation between European and American smokeless tobacco and oral cancer. *BMC Public Health*. 2007 Nov;15(7):334.
80. Warnakulasuriya S. Areca nut use following migration and its consequences. *Addict Biol*. 2002 Jan;7(1):127-32.
81. Gupta PC, Ray CS. Epidemiology of betel quid usage. *Ann Acad Med Singapore*. 2004 Jul;33(4Suppl):31-6.
82. Bedi R, Gilthorpe MS. The prevalence of betel-quid and tobacco chewing among the Bangladeshi community resident in a United Kingdom area of multiple deprivation. *Prim Dent Care*. 2005 Sep;2(2):39-42.
83. Balaram P, Sridhar H, Rajkumar T, Vaccarella S, Herrero R, Nandakumar A, et al. Oral cancer in southern India: the influence of smoking, drinking, paanhewing and oral hygiene. *Int J Cancer*. 2002 Mar;20;98(3):440-5.

84. Rothman K, Keller A. The effect of joint exposure to alcohol and tobacco on risk of cancer of the mouth and pharynx. *J Chronic Dis.* 1972 Dec;25(12):711-6.
85. Castellsague X, Quintana MJ, Martínez MC, Nieto A, Sánchez MJ, Juan A, et al. The role of type of tobacco and type of alcoholic beverage in oral carcinogenesis. *Int J Cancer.* 2004 Feb;20;108(5):741-9.
86. Petti S. Lifestyle risk factors for oral cancer. *Oral Oncol.* 2009 Apr-May;45-(4-5):340-50.
87. Room R, Babor T, Rehm J. Alcohol and public health. *Lancet.* 2005 Feb;5-11;365(9458):519-30.
88. Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, Bouvard V, et al. Carcinogenicity of alcoholic beverages. *Lancet Oncol.* 2007 Apr;8(4):292-3.
89. Seitz HK, Stickel F. Molecular mechanisms of alcohol-mediated carcinogenesis. *Nat Rev Cancer.* 2007 Aug;7(8):599-612.
90. Brooks PJ, Theruvathu JA. DNA adducts from acetaldehyde: implications for alcohol-related carcinogenesis. *Alcohol.* 2005 Apr;35(3):187-93.
91. Jagerstad M, Skog K. Genotoxicity of heat-processed foods. *Mutat Res.* 2005 Jul;1;574(1-2):156-72.
92. Subapriya R, Thangavelu A, Mathavan B, Ramachandran CR, Nagini S. Assessment of risk factors for oral squamous cell carcinoma in Chidambaram, Southern India: a case-control study. *Eur J Cancer Prev.* 2007 Jun;16(3):251-6.
93. Zhang ZF, Morgenstern H, Spitz MR, Tashkin DP, Yu GP, Marshall JR, et al. Marijuana use and increased risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1999 Dec;8(12):1071-8.
94. Llewellyn CD, Linklater K, Bell J, Johnson NW, Warnakulasuriya KA. An analysis of risk factors for oral cancer in young people: a case-control study. *Oral Oncol.* 2004 Mar;40(3):304-13.
95. Sidney S, Quesenberry CPJ, Friedman GD, Tekawa IS. Marijuana use and cancer incidence (California, United States). *Cancer Causes Control.* 1997 Sep;8(5):722-8.
96. Rosenblatt KA, Daling JR, Chen C, Sherman KJ, Schwartz SM. Marijuana use and risk of oral squamous cell carcinoma. *Cancer Res.* 2004 Jun;1;64(11):4049-54.
97. Gillison ML, Lowy DR. A causal role for human papillomavirus in head and neck cancer. *Lancet.* 2004 May;8;363(9420):1488-9.
98. Kreimer AR, Alberg AJ, Daniel R, Gravitt PE, Viscidi R, Garrett ES, et al. Oral human papillomavirus infection in adults is associated with sexual behavior and HIV serostatus. *J Infect Dis.* 2004 Feb;15;189(4):686-98.

99. Schwartz SM, Daling JR, Doody DR, Wipf GC, Carter JJ, Madeleine MM, et al. Oral cancer risk in relation to sexual history and evidence of human papillomavirus infection. *J Natl Cancer Inst.* 1998 Nov;4;90(21):1626-36.
100. Smith EM, Ritchie JM, Summersgill KF, Klussman JP, Lee JH, Wang D, et al. Age, sexual behavior and human papillomavirus infection in oral cavity and oropharyngeal cancers. *Int J Cancer.* 2004 Feb;20;108(5):766-72.
101. Hansson BG, Rosenquist K, Antonsson A. Strong association between infection with human papillomavirus and oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma: a population-based case-control study in southern Sweden. *Acta Otolaryngol.* 2005 Dec;125(12):1337-44.
102. Smith EM, Ritchie JM, Summersgill KF, Hoffman HT, Wang DH, Haugen TH, et al. Human papillomavirus in oral exfoliated cells and risk of head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2004 Mar;17;96(6):449-55.
103. Lingen MW, Xiao W, Schmitt A, Jiang B, Pickard R, Kreinbrink P, et al. Low etiologic fraction for high-risk human papillomavirus in oral cavity squamous cell carcinomas. *Oral Oncol.* 2013 Jan;49(1):1-8.
104. Velho S, Oliveira C, Ferreira A, Ferreira AC, Suriano G, Schwartz S, Jr., et al. The prevalence of PIK3CA mutations in gastric and colon cancer. *Eur J Cancer.* 2005;41(11):1649-54. PubMed PMID: 15994075. eng.
105. Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tan PF, et al. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *New Engl J Med.* 2010 Jul;1;363(1):24-35.
106. Chung CH, Zhang Q, Kong CS, Harris J, Fertig EJ, Harari PM, et al. p16 protein expression and human papillomavirus status as prognostic biomarkers of nonoropharyngeal head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2014 Dec;10;32(35):3930-8.
107. Petridou E, Zavras AI, Lefatzis D, Dessypris N, Laskaris G, Dokianakis G, et al. The role of diet and specific micronutrients in the aetiology of oral carcinoma. *Cancer.* 2002 Jul;1;94(11):2981-8.
108. Garrote LF, Herrero R, Reyes RM, Vaccarella S, Anta JL, Ferbeye L, et al. Risk factors for cancer of the oral cavity and oro-pharynx in Cuba. *Br J Cancer.* 2005 Jul;6;85(1):46-54.
109. Lissowska J, Pilarska A, Pilarski P, Samolczyk-Wanyura D, Piekarczyk J, Bardin-Mikollajczak A, et al. Smoking, alcohol, det, dentition and sexual practices in the epidemiology of oral cancer in Poland. *Eur J Cancer Prev.* 2003 Feb;12(1):25-33.
110. Levi F, Pasche C, La Vecchia C, Lucchini F, Franceeschi S, Monnier P. Food groups and risk of oral and pharyngeal cancer. *Int J Cancer.* 1999 Aug;31;77(5):705-9.

111. McLaughlin JK, Gridley G, Block G, Winn DM, Preston-Martin S, Schoenberg JB, et al. Dietary factors in oral and pharyngeal cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1988 Oct;5;80(15):1237-43.
112. Negri E, Franceschi S, Bosetti C, Levi F, Conti E, Parpinel M, et al. Selected micronutrients and oral and pharyngeal cancer. *Int J Cancer.* 2000 Apr;1;86(1):122-7.
113. Bosetti C, Gallus S, Trichopoulou A, Talamini R, Franceschi S, Negri E, et al. Influence of the Mediterranean diet on the risk of cancers of the upper aerodigestive tract. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003 Oct;12(10):1091-4.
114. Kane MA. The role of folates in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Detect Prev.* 2005;29(1):46-53.
115. Rossi M, Garavello W, Talamini R, Negri E, Bosetti C, Dal Maso L, et al. Flavonoid and the risk of oral and pharyngeal cancer: a case-control study from Italy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007 Aug;16(8):1621-5.
116. Zheng W, Blot WJ, Diamond EL, Norkus EP, Spate V, Morris JS, et al. Serum micronutrients and the subsequent risk of oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res.* 1993 Feb;53(4):795-8.
117. Marshall JR, Boyle P. Nutrition and oral cancer. *Cancer Causes Control.* 7:101-11.
118. Serdula MK, Byers T, Mokdad AH, Simoes E, Mendlein JM, Coates RJ. The association between fruit and vegetable intake and chronic disease risk factors. *Epidemiology.* 1996 Mar;7(2):161-5.
119. Agudo A, Pera G. Vegetable and fruit consumption associated with anthropometric, dietary and lifestyle factors in Spain. EPIC group of Spain. European Prospective Investigation into Cancer. *Public Health Nutr.* 1999 Sep;2(3):263-71.
120. Sánchez MJ, Martínez C, Nieto A, Castellsagué X, Quintana MJ, Bosch FX, et al. Oral and oropharyngeal cancer in Spain: influence of dietary patterns. *Eur J Cancer Prev.* 2003 Feb;12(1):49-56.
121. De Stefani E, Boffeta P, Ronco AL, Correa P, Oreggia F, Deneo-Pellegrini H, et al. Dietary patterns and risk of cancer of the oral cavity and pharynx. *Nutr Cancer.* 2005;51(2):132-9.
122. Kalavrezos N, Scully C. Mouth cancer for clinicians part 5: risk factors (other). *Dental Update.* 2005 Oct;42(8):766-8.
123. King GN, Healy CM, Glover MT, Kwan JT, Williams DM, Leigh IM, et al. Increased prevalence of dysplastic and malignant lip lesions in renal transplant recipients. *N Engl J Med.* 1995 Apr;20;332(16):1052-7.
124. van Leeuwen MT, Grulich AE, McDonald SP, McCredie MR, Amin J, Stewart JH, et al. Immunosuppression and other risk factors for lip cancer after kidney transplantation. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009 Feb;18(2):561-9.

125. Li AC, Warnakulasuriya S, Thompson RP. Neoplasia of the tongue in a patient with Crohn's disease treated with azathioprine: case report. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003 Feb;15(2):185-7.
126. Dasanayake AP, Silverman AJ, Warnakulasuriya S. Maté drinking and oral and oropharyngeal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oral Oncol*. 2010 Feb;46(2):82-6.
127. Moreno-López LA, Esparza-Gómez GC, González-Navarro A, Cerero-Lapiedra R, González-Hernández MJ, Domínguez-Rojas V. Risk of oral cancer associated with tobacco smoking, alcohol consumption and oral hygiene: a case-control study in Madrid. *Oral Oncol*. 2000 Mar;36(2):170-4.
128. Velly AM, Franco EL, Schlecht N, Pintos J, Kowalski LP, Oliveira BV, et al. Relationship between dental factors and risk of upper aerodigestive tract cancer. *Oral Oncol*. 1998 Jul;34(4):284-91.
129. Marshall JR, Graham S, Haughey BP, Shedd D, O'Shea R, Brasure J, et al. Smoking, alcohol, dentition and diet in the epidemiology of oral cancer. *Eur J Cancer B Oral Oncol*. 1992 Jul;28B(1):9-15.
130. Graham S, Dayal H, Rohrer T, Swanson M, Sultz H, Shedd D, et al. Dentition, diet, tobacco and alcohol in the epidemiology of oral cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1977 Dec;59(6):1611-8.
131. Talamini R, Vaccarella S, Barbone F, Tavani A, La Vecchia C, Herrero R, et al. Oral hygiene, dentition, sexual habits and risk of oral cancer. *Br J Cancer*. 2000 Nov;83(9):1238-42.
132. Zheng TZ, Boyle P, Hu HF, Duan J, Jian PJ, Ma DQ, et al. Dentition, oral hygiene and risk of oral cancer: a case-control study in Beijing, People's Republic of China. *Cancer Causes Control*. 1990 Nov;1(3):235-41.
133. Philip M, Rowley DA, Schreiber H. Inflammation as a tumor promoter in cancer induction. *Semin Cancer Biol*. 2004 Dec;14(6):433-9.
134. Moss SF, Blaser MJ. Mechanisms of disease: inflammation and the origins of cancer. *Nat Clin Pract Oncol*. 2005 Feb;2(2):90-7.
135. Kutler DI, Auerbach AD, Satagopan J, Giampietro PF, Batish SD, Huvos AG, et al. High incidence of head and neck squamous cell carcinoma in patients with Fanconi anemia. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003 Jan;129(1):106-12.
136. Rosenberg PS, Greene MH, Alter BP. Cancer incidence in persons with Fanconi anemia. *Blood*. 2003 Feb;101(3):822-6.
137. Kutler DI, Wreesmann VB, Goberdhan A, Ben-Porat L, Satagopan J, Ngai I, et al. Human papillomavirus DNA and p53 polymorphisms in squamous cell carcinomas from Fanconi anemia patients. *J Natl Cancer Inst*. 2003 Nov;95(22):1718-21.

138. Prime SS, Thakker NS, Pring M, Guest PG, Paterson IC. A review of inherited cancer syndromes and their relevance to oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*. 2001 Jan;37(1):1-16.
139. Trizna Z, Schantz SP. Hereditary and environmental factors associated with risk and progression of head and neck cancer. *Otolaryngol Clin North Am*. 1999 Oct;25(5):1089-103.
140. Yu KK, Zanation AM, Moss JR, Yarbrough WG. Familial head and neck cancer: molecular analysis of a new clinical entity. *Laryngoscope*. 2002 Sep;112(9):1587-93.
141. Yarbrough WG, Aprelikova O, Pei H, Olshan AF, Liu ET. Familial tumor syndrome associated with a germline nonfunctional p16INK4a allele. *J Natl Cancer Inst*. 16;88(20):1489-91.
142. Hardisson D. Molecular pathogenesis of head and neck squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2003 Oct;260(9):502-8.
143. Brown LM, Gridley G, Diehl SR, Winn DM, Harty LC, Otero EB, et al. Family cancer history and susceptibility to oral carcinoma in Puerto Rico. *Cancer*. 2001 Oct;15;92(8):2102-8.
144. Foulkes WD, Brunet JS, Kowalski LP, Narod SA, Franco EL. Family history of cancer is a risk factor for squamous cell carcinoma of the head and neck in Brazil: a case-control study. *Int J Cancer*. 1995 Dec;11;63(6):769-73.
145. Jefferies S, Eeles R, Goldqar D, A'Hern R, Henk JM, Gore M. The role of genetic factors in predisposition to squamous cell cancer of the head and neck. *Br J Cancer*. 1999 Feb;79(5-6):865-7.
146. Foulkes WD, Brunet JS, Sieh W, Black MJ, Shenouda G, Narod SA. Familial risks of squamous cell carcinoma of the head and neck: retrospective case-control study. *BMJ*. 1996 Sep;21;313(7059):716-21.
147. Bongers V, Braakhuis BJ, Tobi H, Lubsen H, Snow GB. The relation between cancer incidence among relatives and occurrence of multiple primary carcinomas following head and neck cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1996 Aug;5(8):595-8.
148. Partridge M. Oral cancer: the genetic basis of the disease. *Dental Update*. 2000 Jun;27(5):242-8.
149. Gallagher RP, Lee TK. Adverse effects of ultraviolet radiation: a brief review. *Prog Biophys Mol Biol*. 2006 Sep;92(1):119-31.
150. Tenkate TD. Occupational exposure to ultraviolet radiation: a health risk assessment. *Rev Environ Health*. 1999 Oct-Dec;14(4):187-209.
151. Cann CI, Fried MP, Rothman KJ. Epidemiology of squamous cell cancer of the head and neck. *Otolaryngol Clin North Am*. 1985 Aug;18(3):367-88.

152. Sale KA, Wallace DI, Girod DA, Tsue TT. Radiation-induced malignancy of the head and neck. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004 Nov;131(5):643-5.
153. Bascones A. *Cáncer y precáncer oral*. Ed., editor. Madrid 2003.
154. Bouquet JE. Oral leucoplakia and erythroplakia. *Pract Periodontics Anesthesia Dent.* 1994;6(9).
155. Kramer IR, Lucas RB, Pindborg JJ, Sobin LH. Definition of leucoplakia and related lesions: an aid to studies on oral precancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1978 Oct;46(4):518-39.
156. Axell T, Pindborg JJ, Smith CJ, Van der Waal I. Oral white lesions with special reference to precancerous and tobacco-related lesions: conclusions of an international symposium held in Uppsala, Sweden. *J Oral Pathol Med.* 1996 Feb;25(2):49-54.
157. Neville BW, Day TA. Oral cancer and precancerous lesions. *CA Cancer J Clin.* 002 Jul-Aug;52(4):195-215.
158. Bagan J, Sarrion G, Jimenez Y. Oral cancer: clinical features. *Oral Oncol.* 2010 Jun;46(6):414-7.
159. Haya-Fernández MC, Bagán JV, Murillo-Cortés J, Poveda-Roda R, Calabuig C. The prevalence of oral leukoplakia in 138 patients with oral squamous cell carcinoma. *Oral Dis.* 2004 Nov;10(6):346-8.
160. Hansen LS, Olson JA, Silverman SJ. Proliferative verrucous leukoplakia. A long-term study of thirty patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1985 Sep;60(3):285-98.
161. de Sousa FA, Paradella TC, Carvalho YR, Rosa LE. Comparative analysis of cell proliferation ratio in oral lichen planus, epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2009 NOV;14(11):e563-7.
162. González-Moles MA, Scully C, Gil-Montoya JA. Oral lichen planus: controversies surrounding malignant transformation. *Oral Dis.* 2008 Apr;14(3):229-43.
163. Scully C, J. B. Oral squamous cell carcinoma overview. *Oral Oncol.* 2009 Apr-May;45(4-5):301-8.
164. Yanjia H, Xinchun J. The role of epithelial-mesenchymal transition in oral squamous cell carcinoma and oral submucous fibrosis. *Clin Chim Acta.* 2007 Aug;383(1-2):51-6.
165. Markopoulos A, Albanidou-Farmaki E, Kayavis I. Actinic cheilitis: clinical and pathologic characteristics in 65 cases. *Oral Dis.* 2004 Jul;10(4):212-6.

166. Seoane-Romero JM, Vázquez-Mahía I, Seoane J, Varela-Centelles P, Tomás I, López-Cedrún JL. Factors related to late state diagnosis of oral squamous cell carcinoma. 2012 Jan 1;17(1):e35-40.
167. Bagán JV, Scully C. Medicina y patología oral 2006.
168. Mashberg A, Merletti F, Boffeta P, Gandolfo S, Ozzello F, Fracchia F, et al. Appearance, site of occurrence, and physical and clinical characteristics of oral carcinoma in Torino, Italy. Cancer. 1989 Jun;15;63(12):2522-7.
169. Cuffari L, Tesseroli de Siqueira JT, Nemr K, Rapaport A. Pain complaint as the first symptom of oral cancer: a descriptive study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006 Jul;102(1):56-61.
170. Jainkittivong A, Swasdison S, Thangpitsityotin M, Langlais RP. Oral squamous cell carcinoma: a clinicopathological study of 342 Thai cases. J Contemp Dent Pract. 2009 Sep;1;10(5):E033-40.
171. Al-Rawi NH, Talabani NG. Squamous cell carcinoma of the oral cavity: a case series analysis of clinical presentation and histological grading of 1,425 cases from Iraq. Clin Oral Investig. 2008 Mar;12(1):15-8.
172. Bouquot JE, Weiland LH, Kurland LT. Metastases to and from the upper aerodigestive tract in the population of Rochester. Head Neck. 1989 May-Jun;11(3):212-8.
173. Brandizzi D, Gandolfo M, Velazco ML, Cabrini RL, Lanfranchi HE. Clinical features and evolution of oral cancer: A study of 274 cases in Buenos Aires, Argentina. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2008 Sep;13(9):E544-8.
174. Ghoshal S, Mallick I, Panda N, Sharma SC. Carcinoma of the buccal mucosa: analysis of clinical presentation, outcome and prognostic factors. Oral Oncol. 2006 May;42(5):533-9.
175. Sasaki T, Moles DR, Imai Y, Speight PM. Clinico-pathological features of squamous cell carcinoma of the oral cavity in patients <40 years of age. J Oral Pathol Med. 2005 Mar;34(3):129-33.
176. Warnakulasuriya S. Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. Oral Oncol. 2009 Apr-May;45(4-5):309-16.
177. Seoane J, Pita-Fernández S, Gómez I, Vázquez-Mahía I, López-Cedrún JL, De Agustín D, et al. Proliferative activity and diagnostic delay in oral cancer. Head Neck. 2010 Oct;32(10):1377-84.
178. Warnakulasuriya KA, Robinson D, Evans H. Multiple primary tumours following head and neck cancer in southern England during 1961-98. J Oral Pathol Med. 2003 Sep;32(8):443-9.

179. Díaz-Rubio E. Atlas integral de tumores de cabeza y cuello. Madrid 2010.
180. Sarrion-Pérez MG. Estudio clínico del carcinoma oral de células escamosas y su relación con la expresión de los linfocitos T reguladores infiltrantes en el tejido tumoral: Universidad de Valencia; 2011.
181. Eneroth CM, Franzén S, Zajicek J. Aspiration biopsy of salivary gland tumours. A critical review of 910 biopsies. *Acta Cytol.* 1967 Nov-Dec;11(6):470-2.
182. Shaha A, Webber C, Marti J. Fine-needle aspiration in the diagnosis of cervical lymphadenopathy. *Am J Surg.* 1986 Oct;152(4):420-3.
183. Díaz-Rubio E. Abordaje multidisciplinar del cáncer de cabeza y cuello. Una visión real para el siglo XXI. Madrid: Merck S.L.; 2010.
184. Close LG, Merkel M, Burns DK, Schaefer SD. Computed tomography in the assessment of mandibular invasion by intraoral carcinoma. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1986 Jul-Aug;95(4 Pt 1):383-8.
185. Foust RJ, Duong RT. Roles of computed tomography and magnetic resonance imaging diagnoses in the treatment of head and neck cancer. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1991 Aug;5(4):657-65.
186. Ha PK, Hdeib A, Goldenberg D, Jacene H, Patel P, Koch W, et al. The role of positron emission tomography and computed tomography fusion in the management of early-stage and advanced-stage primary head and neck squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006 Jan;132(1):12-6.
187. Schöder H, Yeung HW, Gonen M, Kraus D, Larson SM. Head and neck cancer: clinical usefulness and accuracy of PET/CT image fusion. *Radiology.* 2004 Apr;231(1):65-72.
188. De Bree R, Deurloo EE, Snow GB, Leemans CR. Screening for distant metastases in patients with head and neck cancer. *Laryngoscope.* 2000 Mar;110(3 Pt 1):397-401.
189. Connell CA, Corry J, Milner AD, Hogg A, Hicks RJ, Rischin D, et al. Clinical impact of, and prognostic stratification by, F-18 FDG PET/CT in head and neck mucosal squamous cell carcinoma. *Head Neck.* 2007 Nov;29(11):986-95.
190. Xu GZ, Zhu XD, Li MY. Accuracy of whole-body PET and PET-CT in initial M staging of head and neck cancer: a meta-analysis. *Head Neck.* 2011 Jan;33(1):87-9.
191. Haerle SK, Strobel K, Hany TF, Sidler D, Stoeckli SJ. 18F-FDG-PET/TC versus panendoscopy for the detection of synchronous second primary tumors in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck.* 2010 Mar;32(3):319-25.
192. León X, Quer M, Díez S, Orús C, López-Pousa A, Burqués J. Second neoplasm in patients with head and neck cancer. *Head Neck.* 1999 May;21(3):204-10.

193. León X, Quer M, Orús C, del Prado Venegas M, López M. Distant metastases in head and neck cancer patients who achieved loco-regional control. *Head Neck*. 2000 Oct;22(7):680-6.
194. Arunachalam PS, Putnam G, Jennings P, Messersmith R, Robson AK. Role of computerized tomography (CT) scan of the chest in patients with newly diagnosed head and neck cancers. *Clin Otolaryngol Allied Sci*. 2002 Oct;27(5):409-11.
195. Glynn F, Brennan S, O'Leary G. CT staging and surveillance of the thorax in patients with newly diagnosed and recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck: is it necessary? *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2006 Oct;263(10):943-5.
196. Denoix PF. Nomenclature des Cancer. *Bull Inst Nat Hyg*. 1944:69-73.
197. Broumand V, Lozano TE, Gómez JA. Evaluation and staging of oral cancer. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2006 Nov;18(4):435-44.
198. Sobin L, Wittekind C. TNM classification of malignant tumours. 6^a ed. New York: Wiley-Liss; 2002.
199. Wheless SA, McKinney K, Zanation AM. A prospective study of the clinical impact of a multidisciplinary head and neck tumor board. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010 Nov;143(5):650-4.
200. Ernani V, Saba NF. Oral cavity cancer: risk factors, pathology and management. *Oncology*. 2015;89(4):187-9.
201. Ravasz LA, Slootweg PJ, Hordijk GJ, Smit F, van der Tweel I. The status of the resection margin as a prognostic factor in the treatment of head and neck carcinoma. *J Otolaryngol Head Neck Surg*. 1991 Oct;19(7):314-8.
202. Loree TR, Strong EW. Significance of positive margins in oral cavity squamous carcinoma. *Am J Surg*. 1990 Oct;160(4):410-4.
203. Zieske LA, Johnson JT, Myers EN, Thearle PB. Squamous cell carcinoma with positive margins. Surgery and postoperative irradiation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1986 Aug;112(8):863-6.
204. O'Brien CJ, Carter RL, Soo KC, Barr LC, Hamlyn PJ, Shaw HJ. Invasion of the mandible by squamous carcinomas of the oral cavity and oropharynx. *Head Neck Surg*. 1986 Mar-Apr;8(4):247-56.
205. McGregor AD, MacDonald DG. Routes of entry of squamous cell carcinoma to the mandible. *Head Neck Surg*. 1988 May-Jun;10(5):294-301.

206. Adelstein DJ, Li Y, Adams GL, Wagner HJ, Kish JA, Ensley JF, et al. A intergroup phase III comparison of standard radiation therapy and two schedules of concurrent chemoradiotherapy in patients with unresectable squamous cell head and neck cancer. *J Clin Oncol*. 2003 Jan;1;21(1):92-8.
207. Induction chemotherapy plus radiation compared with surgery plus radiation in patients with advanced laryngeal cancer. The department of veterans affairs laryngeal cancer study group. *N Engl J Med*. 1991 Jun;13;324(24):1685-90.
208. Lefebvre JL, Chevalier D, Luboinski B, Kirkpatrick A, Collette L, Sahmoud T. Larynx preservation in pyriform sinus cancer: preliminary results of a European Organization for research and treatment of cancer phase III trial. *J Natl Cancer Inst*. 1996 Jul;3;88(13):890-9.
209. Pointreau Y, Garaud P, Chapet S, Sire C, Tuchais C, Tortochaux J, et al. Randomized trial of induction chemotherapy with cisplatin and 5-fluorouracil with or without docetaxel for larynx preservation. *J Natl Cancer Inst*. 2009 Apr;1;101(7):498-506.
210. Kowalsky LP, Sanabria A. Elective neck dissection in oral carcinoma: a critical review of the evidence. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2007 Jun;27(3):113-7.
211. Persky MS, Lagmay VM. Treatment of the clinically negative neck in oral squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*. 1999 Jul;109(7 Pt 1):1160-4.
212. Shah JP, Andersen PE. Evolving role of modifications in neck dissection for oral squamous carcinoma. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 1995 Feb;33(1):3-8.
213. Shah JP. Patterns of cervical lymph node metastasis from squamous carcinomas of the upper aerodigestive tract. *Am J Surg*. 1990 Oct;160(4):405-9.
214. Leemans CR, Tiwari R, van der Waal I, Karim AB, Nauta JJ, Snow GB. The efficacy of comprehensive neck dissection with and without radiotherapy in nodal metastases of squamous cell carcinoma of the upper respiratory and digestive tracts. *Laryngoscope*. 1990 Nov;100(11):1194-8.
215. López-Cedrún JL, Andres De Llano J. A 22 year survival and prognostic factors analysis in a homogeneous series of 64 patients with advanced cáncer of the tongue and the floor of the mouth. *J Craniomaxillofac Surg*. 2015 Apr;43(3):376-81. Epub 2015 Jan 24.
216. Layland MK, Sessions DG, Lenox J. The influence of lymph node metastasis in the treatment of squamous cell carcinoma of the oral cavity, oropharynx, larynx and hypopharynx: N0 versus N+. *Laryngoscope* 2005 Apr;115(4):629-39. 2005 Apr;115(4):629-39.
217. Shear M, Hawkins DM, Farr HW. The prediction of lymph node metastases from oral squamous carcinoma. *Cancer*. 1976 Apr;37(4):1901-7.
218. Yamamoto E, Miyakawa A, Kohama G. Mode of invasion and lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Head Neck Surg*. 1984 May-Jun;6(5):938-47.

219. Okamoto M, Ozeki S, Watanabe T, Iida Y, Tashiro H. Cervical lymph node metastasis in carcinoma of the tongue. Correlation between clinical and histopathological findings and metastasis. *J Craniomaxillofac Surg*. 1988 Jan;16(1):31-4.
220. Borges AM, Shrikhande SS, Ganesh B. Surgical pathology of squamous carcinoma of the oral cavity: its impact on management. *Semin Surg Oncol*. 1989;5(5):310-7.
221. Martínez-Gimeno C, Rodríguez EM, Vila CN, Varela CL. Squamous cell carcinoma of the oral cavity: a cliniopathologic scoring system for evaluating risk of cervical lymph node metastasis. *Laryngoscope*. 105(7 Pt 1):728-33.
222. Magnano M, De Stefani A, Lerda W, Usai A, Ragona R, Bussi M, et al. Prognostic factors of cervical lymph node metastasis in head and neck squamous cell carcinoma. *Tumori*. 1997 Nov-Dec;83(6):922-6.
223. Snyderman NL, Johnson JT, Schramm VLJ, Myers EN, Bedetti CD, Thearle P. Extracapsular spread of carcinoma in cervical lymph nodes. *Cancer*. 1985 Oct;56(7):1597-9.
224. Ferlito A, Silver CE, Rinaldo A. Elective management of the neck in oral cavity squamous carcinoma: current concepts supported by prospective studies. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2009 Jan;47(1):5-9.
225. Vandenbrouck C, Sancho-Garnier H, Chassagne D, Saravance D, Cachin Y, Micheau C. Elective versus therapeutic radical neck dissection in epidermoid carcinoma of the oral cavity: results of a randomized clinical trial. *Cancer*. 1980 Jul;15;46(2):386-90.
226. Fakih AR, Rao RS, Patel AR. Prophylactic neck dissection in squamous cell carcinoma of oral tongue: a prospective randomized study. *Semin Surg Oncol*. 1989;5(5):327-30.
227. Kligerman J, Lima RA, Soares JR, Prado L, Dias FL, Freitas EQ, et al. Supraomohyoid neck dissection in the treatment of T1/T2 squamous cell carcinoma of oral cavity. *Am J Surg*. 1994 Nov;168(5):391-4.
228. Crile G. Excision of the cancer of the head and neck: with special reference to the plan of dissection based on one hundred and thirty two operations. *JAMA*. 1987 Dec;11;258(22):3286-93.
229. Ward GE, Robben JO. A composite operation for radical neck dissection and removal of cancer of the mouth. *Cancer*. 1951 Jan;4(1):98-109.
230. Shah JP, Candela FC, Poddar AK. The patterns of cervical lymph node metastases from squamous carcinoma of the oral cavity. *Cancer*. 1990 Jul;66(1):109-13.
231. Andersen PE, Cambronero E, Shaha AR, Shah JP. The extent of neck disease after regional failure during observation of the N0 neck. *Am J Surg*. 1996 Dec;172(6):689-91.

232. Results of a prospective trial on elective modified radical classical versus supraomohyoid neck dissection in the management of oral squamous carcinoma. Brazilian Head and Neck Cancer Study Group. *Am J Surg*. 1998 Nov;176(5):422-7.
233. Carvalho AL, Kowalski LP, Borges JA, Aguiar SJ, Magrin J. Ipsilateral neck cancer recurrences after elective supraomohyoid neck dissection. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2000 Mar;126(3):410-2.
234. Robbins KT. Classification of neck dissection: current concepts and future considerations. *Otolaryngol Clin North Am*. 1998 Aug;31(4):639-55.
235. Byers RM, Weber RS, Andrews T, McGill D, Kare R, Wolf P. Frequency and therapeutic implications of "skip metastases" in the neck from squamous carcinoma of the oral tongue. *Head Neck*. 1997 Jan;19(1):14-9.
236. Woolgar JA. Pathology of the N0 neck. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 1999 Jun;37(3):205-9.
237. Khafif A, López-Garza JR, Medina JE. Is dissection of level IV necessary in patients with T1-T3 N0 tongue cancer? *Laryngoscope*. 2001 Jun;111(6):1088-90.
238. Kolli VR, Datta RV, Orner JB, Hicks WLJ, Loree TR. The role of supraomohyoid neck dissection in patients with positive nodes. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2000 Mar;126(3):413-6.
239. Andersen PE, Warren F, Spiro J, Burningham A, Wong R, Wax MK, et al. Results of selective neck dissection in management of the node-positive neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2002 Oct;128(10):1180-4.
240. Traynor SJ, Cohen JL, Gray J, Andersen PE, Everts EC. Selective neck dissection and the management of the node-positive neck. *Am J Surg*. 1996 Dec;172(6):654-7.
241. Spiro JD, Spiro RH, Shah JP, Sessions RB, Strong EW. Critical assessment of supraomohyoid neck dissection. *Am J Surg*. 1988 Oct;156(4):286-9.
242. Liang L, Zhang T, Kong Q, Liang J, Liao G. A meta-analysis on selective versus comprehensive neck dissection in oral squamous cell carcinoma patients with clinically node-positive neck. *Oral Oncol*. 2015 Dec;51(12):1076-81.
243. Harish K. Neck dissections: radical to conservative. *World J Surg Oncol*. 2005 Apr;18;3(1):21.
244. Chummun S, McLean NR, Ragbir M. Surgical education: neck dissection. *Br J Plast Surg*. 2004 Oct;57(7):610-23.
245. Campana JP, Meyers AD. The surgical management of oral cancer. *Otolaryngol Clin North Am*. 2006 Apr;39(2):331-48.

246. Rani P, Bhardwaj Y, Dass PK, Gupta M, Malhotra D, Ghezta NK. Neck dissection for oral squamous cell carcinoma: our experience and a review of the literature. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*. 2015 Dec;41(6):299-305.
247. Rigual NR, Wiseman SM. Neck dissection: current concepts and future directions. *Surg Oncol Clin N Am*. 2004 Jan;13(1):151-66.
248. Koo BS, Lim YC, Lee JS, Choi EC. Management of contralateral N0 neck in oral cavity squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2006 Oct;28(10):896-901.
249. Byers RM, Wolf PF, Ballantyne AJ. Rationale for elective modified neck dissection. *Head Neck Surg*. 1988 Jan-Feb;10(3):160-7.
250. Rahima B, Shingaki S, Nagata M, Saito C. Prognostic significance of perineural invasion in oral and oropharyngeal carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004 Apr;97(4):423-31.
251. Santos AB, Cernea CR, Inoue M, Ferraz AR. Selective neck dissection for node-positive necks in patients with head and neck squamous cell carcinoma: a word of caution. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2006 Jan;132(1):79-81.
252. Leemans CR, Tiwari R, Nauta JJ, van der Waal I, Snow GB. Regional lymph node involvement and its significance in the development of distant metastases in head and neck carcinoma. *Cancer*. 1993 Jan;71(2):452-6.
253. Álvarez-Amezaga J, Barbier-Herrero L, Pijoan del Barrio JI, Rodríguez JC, Genolla-Su-birats J, Rios-Altolaquirre G, et al. Diagnostic efficacy of sentinel node biopsy in oral squamous cell carcinoma. Cohort study and meta-analysis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2007 May;12(3):E235-43.
254. Green B, Blythe J, Brennan PA. Sentinel lymph node biopsy for head and neck mucosal cancers – an update on the current evidence. *Oral Disease*. 2016 Sep;22(6):498-502. Epub 2016 Mar 31.
255. Alkureishi LW, Burak Z, Alvarez JA, Ballinger J, Bilde A, Britten AJ, et al. Joint practice-guidelines for radionuclide lymphoscintigraphy for sentinel node localization in oral/oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2009 Nov;16(11):3190-210.
256. De Bree R, Nieweg OE. The history of sentinel node biopsy in head and neck cancer: from visualisation of lymphatic vessels to sentinel nodes. *Oral Oncol*. 2015 Sep;51(9):819-23. Epub 2015 Jun 27.
257. Atula T, Shoaib T, Ross GL, Gray HW, Soutar DS. How many sentinel nodes should be harvested in oral squamous cell carcinoma? *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2008 Jul;2008 Jul(Suppl 1):S19-23. Epub 2007 Dec 19.

258. Alkureishi LW, Ross GL, Shoaib T, Soutar DS, Robertson AG, Thompson R, et al. Sentinel node biopsy in head and neck squamous cell carcinoma: 5 year follow-up of a European multi-centre trial. *Ann Surg Oncol*. 2010 Sep;17(9):2459-64. Epub 2010 Jun 15.
259. Schilling C, Stoeckli SJ, Haerle SK, Broglie MA, Huber GF, Sorensen JA, et al. Sentinel European Node Trial (SENT): 3 year results of sentinel node biopsy in oral cancer. *Eur J Cancer*. 2015 Dec;51(18):2777-84. Epub 2015 Nov 18.
260. Gèke B, Flach GB, Bloemena E, Klop WM, van Es RJ, Schepman KP, et al. Sentinel lymph node biopsy in clinically N0 T1-T2 staged oral cancer: The Dutch multicenter trial. *Oral Oncol*. 2014 Oct;50(10):1020-4. Epub 2014 Aug 19.
261. Salazar-Fernandez CI, Gallana-Alvarez S, Pereira S, Cambill T, Infante-Cossio P, Hecce-Lopez J. Sentinel Lymph Node Biopsy in Oral and Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma: Statistical Validation and Impact of Micrometastasis Involvement on the Neck Dissection Decision. *J Oral Maxillofac Surg*. 2015 Jul;73(7):1403-9. Epub 2015 Feb 9.
262. Matsuzuka T, Suzuki M, Saijo S, Matsui T, Nomoto Y, Ikeda M, et al. Usefulness of sentinel node navigation surgery in the management of early tongue cancer. *Aur Nasus Larynx*. 2014 Oct;41(5):475-8. Epub 2014 Jun 7.
263. Gómez E, García-Rozado A, Picón M. Reconstrucción con colgajos pediculados. 2006. In: *Protocolos clínicos de la Sociedad Española de Cirugía Oral y Maxilofacial* [Internet]. Spain; [603-11].
264. Shah JP, Gil Z. Current concepts in management of oral cancer-surgery. *Oral Oncol*. 2009 Apr-May;45(4-5):394-401.
265. Glenny AM, Furness S, Wothington HV, Conway DI, Oliver R, Clarkson JE, et al. Interventions for the treatment of oral cavity and oropharyngeal cancer: radiotherapy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Dec;8;(12):CD006387.
266. Ang KK, Trotti A, Brown BW, Garden AS, Foote RL, Morrison WH, et al. Randomized trial addressing risk features and time factors of surgery plus radiotherapy in advanced head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2001 Nov;1;51(3):571-8.
267. Fu KK, Pajak TF, Trotti A, Jones CU, Spenser SA, Phillips TL, et al. A Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) phase III randomized study to compare hyperfractionation and two variants of accelerated fractionation to standard fractionation radiotherapy for head and neck squamous cell carcinomas: first report of RTOG 9003. 2000;48(1):7-16. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2001 Aug;1;48(1):7-16.
268. Jones JL, Wagner S. Management of radiotherapy and chemotherapy. In: Peterson LJ, editor. *Principles of Oral and Maxillofacial Surgery*. II. Philadelphia: J.B. Lippincott Company; 1992.

269. Manual of Oral and Maxillofacial Surgery. Massachusetts General Hospital. St. Louis: Mosby Company; 1987.
270. Calhoun KH, Shapiro RD, Stienberg CM, Calhoun JH, mader JT. Osteomyelitis of the mandible. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1988 Oct;114(10):1157-62.
271. Furness S, Glenny AM, Wothington HV, Pavitt S, Oliver R, Clarkson JE, et al. Interventions for the treatment of oral cavity and oropharyngeal cancer: chemotherapy. Cochrane Database Syst Rev. 2011 Apr;13(4):CD006386.
272. Rooney M, Kish J, Kinzie J, Weaver A, Crissman J, Al-Sarraf M. Improved complete response rate and survival in advanced head and neck cancer after three-course induction therapy with 120-hour 5-FU infusion and cisplatin. Cancer. 1985 Mar;1;55(5):1123-8.
273. Grau JJ, Caballero M, Verger E, Monzó M, Blanch JL. Weekly paclitaxel for platin-resistant stage IV head and neck cancer patients. Acta Otolaryngol. 2009 Nov;129(11):1294-9.
274. Hitt R, Irigoyen A, Cortes-Funes H, Grau JJ, García-Sáenz JA, Cruz-Hernández JJ, et al. Phase II study of combination cetuximab and paclitaxel in patients with metastatic/recurrent squamous cell carcinoma of head and neck. Ann Oncol. 2012 Apr;23(4):1016-22.
275. Bernier J, Dommenege C, Ozsahin M, Matuszewska K, Lefebvre JL, Greiner RH, et al. Postoperative irradiation with or without concomitant chemotherapy for locally advanced head and neck cancer. N Engl J Med. 2004 May;350(19):1945-52.
276. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, Azarnia N, Shin DM, Cohen RB, et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. N Engl J Med. 2006;354(6):567-78.
277. Pfister DG, Su YB, Kraus DH, Wolden SL, Ls E, Aliff TB, et al. Concurrent cetuximab, cisplatin and concomitant boost radiotherapy for locoregionally advanced, squamous cell head and neck cancer: a pilot phase II study of a new combined-modality paradigm. J Clin Oncol. 2006 Mar;1;24(7):1072-8.
278. Merlano MC, Russi EG, Benasso M, Colantonio I, Vigna-Taglianti R, Lanzilotta V, et al. Cetuximab (C-mab) and chemo-radiation (CT-RT) for loco-regional advanced squamous cell carcinoma of the head and neck (HNC): a phase II study. J Clin Oncol. 2007;25(18S).
279. Lefebvre J, Pointreau Y, Rolland F, Alfonsi M, Baudoux C, Sire D, et al. Sequential chemoradiotherapy (SCRT) for larynx preservation (LP): preliminary results of the randomized phase II TREMPIN study. J Clin Oncol. 2009;27(15S).
280. Worden FP, Moyer J, Lee JS, Taylor JM, Urba SG, Eisbruch A, et al. Chemo-selection of patients for organ preservation in advanced laryngeal cancer: failure of chemotherapy as the sole treatment for complete histological responders to neoadjuvant chemotherapy. Laryngoscope. 2009 Aug;119(8):1510-7.

281. Posner M. Evolving strategies for combined-modality therapy for locally advanced head neck cancer. *Oncologist*. 2007 Aug;12(8):967-74.
282. Posner MR, Hershock DM, Blajman CR, Mickiewicz E, Qinguist E, Gorbournova V, et al. Cisplatin and fluorouracil alone or with docetaxel in head and neck cancer. *N Engl J ed*. 2007 Oct;25;357(17):1705-15.
283. Vermoken JB, Remenar E, van Herpen C, Gorlia T, Mesia R, Degardin M, et al. Cisplatin, fluorouracil, and docetaxel in unresectable head and neck cancer. *N Engl J Med*. 2007 Oct;25;357(17):1695-704.
284. Hitt R, Grau JJ, López-Pousa A, Berrocal A, García-Girón C, Irigoyen A, et al. Final results of a randomized phase III trial comparing induction chemotherapy with cisplatin/5FU or docetaxel/cisplatin/5FU follow by chemoradiotherapy (CRT) alone as a first-line treatment in unresectable locally advanced head and neck cancer.
285. Stein RC. Prospects for phosphoinositide 3-kinase inhibition as a cancer treatment. *Endocr Relat Cancer*. 2001 Sep;8(3):237-48. PubMed PMID: 11566615. Epub 2001/09/22. eng.
286. Bader AG, Kang S, Vogt PK. Cancer-specific mutations in PIK3CA are oncogenic in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Jan 31;103(5):1475-9. PubMed PMID: 16432179. PMCID: PMC1360603. Epub 2006/01/25. eng.
287. Bachman KE, Argani P, Samuels Y, Silliman N, Ptak J, Szabo S, et al. The PIK3CA gene is mutated with high frequency in human breast cancers. *Cancer Biol Ther*. 3. United States 2004. p. 772-5.
288. Lee JW, Soung YH, Kim SY, Lee HW, Park WS, Nam SW, et al. PIK3CA gene is frequently mutated in breast carcinomas and hepatocellular carcinomas. *Oncogene*. 24. England 2005. p. 1477-80.
289. Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, Silliman N, Ptak J, Szabo S, et al. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. *Science*. 2004;304(5670):554. PubMed PMID: 15016963. eng.
290. Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science*; 2002.
291. Vanhaesebroeck B, Waterfield MD. Signaling by distinct classes of phosphoinositide 3-kinases. *Exp Cell Res*; 1999 Nov. p. 239-54.
292. Wymann MP, Zvelebil M, Laffargue M. Phosphoinositide 3-kinase signalling- which way to target? : *Trends Pharmacol Sci*; 2003 Jul. p. 366-76.
293. Deane JA, Fruman DA. Phosphoinositide 3-kinase: Diverse roles immune cell activation. *Annu Rev Immunol*; 2004. p. 563-98.

294. Zhao JJ, Cheng H, Jia S, Wang L, Gjoerup OV, Mikami A, et al. The p110alpha isoform of PI3K is essential for proper growth factor signaling and oncogenic transformation.: *Proc Natl Acad Sci USA*; 2006 Oct. p. 16296-300.
295. Vanhaesebroeck B, Welham MJ, Kotani K, Stein R, Warne PH, Zvelebil MJ, et al. P110delta, a novel phosphoinositide 3-kinase in leukocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Apr 29;94(9):4330-5. P110delta, a novel phosphoinositide 3-kinase in leukocytes.: *Proc Natl Acad Sci USA*; 1997 Apr. p. 4330-5.
296. Hu P, Mondino A, Skolnik E, Schlessinger J. Cloning of a novel, ubiquitously expressed human phosphatidylinositol 3-kinase and identification of its binding site on p85. *Mol Cell Biol*; 1993 Dec. p. 7677-88.
297. Bi L, Okabe I, Bernard DJ, Wynshaw-Boris A, Nussbaum RL. Proliferative defect and embryonic lethality in mice homozygous for a deletion in the p110alpha subunit of phosphoinositide 3-kinase. *J Biol Chem*; 1999 Apr. p. 10963-8.
298. Chantry D, Vojtek A, Kashishian A, Holtzman DA, Wood C, Gray PW, et al. P110delta, a novel phosphatidylinositol 3-kinase catalytic subunit that associates with p85 and is expressed predominantly in leukocytes. *J Biol Chem*; 1997 Aug. p. 19236-41.
299. Knight ZA, Gonzalez B, Feldman ME, Zunder ER, Goldenberg DD, Williams O, et al. A pharmacological map of the PI3-K family defines a role for p110alpha in insulin signaling. *Cell*; 2006 May. p. 733-47. Epub 2006 Apr 27.
300. Jackson SP, Schoenwaelder SM, Goncalves I, Nesbitt WS, Yap CL, Wright CE, et al. PI3-kinase p110beta: a new target for antithrombotic therapy. *Nat Med*; 2005 May. p. 507-14. Epub 2005 Apr 17.
301. Okkenhaug K, Bilancio A, Farjot G, Priddle H, Sancho S, Peskett E, et al. Impaired B and T cell antigen receptor signaling in p110delta PI3-kinase mutant mice. *Science*; 2002 Aug. p. 1031-4. Epub 2002 Jul 18.
302. Foster FM, Traer CJ, Abraham SM, Fry MJ. The phosphoinositide (PI) 3-kinase family. *J Cell Sci*; 2003 Aug. p. 3037-40.
303. Walker EH, Perisic O, Ried C, Stephens L, Williams RL. Structural insights into phosphoinositide 3-kinase catalysis and signalling. *Nature*; 1999 Nov. p. 313-20.
304. Yuan TL, Cantley LC. PI3K pathway alterations in cancer: variations on a theme. *Oncogene*. 2008;27(41):5497-510. PubMed PMID: 18794884. eng.
305. Zhao L, Vogt PK. Class I PI3K in oncogenic cellular transformation. 2008 Sep;18;27(41):5486-96.
306. Corvera S, Czech MP. Direct targets of phosphoinositide 3-kinase products in membrane traffic and signal transduction. 1998 Nov;8(11):442-6.

307. Brazil DP, Park J, Hemmings BA. PKB binding proteins. Getting in on the Akt. 2002 Nov;1;111(3):293-303.

308. Yoeli-Lerner M, Toker A. Akt/PKB signaling in cáncer: a function in cell motility and invasion. 2006 Mar;5(6):603-5. Epub 2006 Mar 15.

309. Vazquez F, Devreotes P. Regulation of PTEN function as a PIP3 gatekeeper through membrane interaction. 2006 Jul;5(14):1523-7. Epub 2006 Jul 17.

310. Simpson L, Parsons R. PTEN: life as a tumor suppressor. 2001 Mar;264(1):29-41.

311. Leslie NR, Downes CP. PTEN function: how normal cells control it and tumour cells lose it. Biochem J; 2004 Aug. p. 1-11.

312. Roberts K, Dennis B, Lewis J, Raff M, Johnson A, Alberts B. Biología molecular de la célula: Garland Science; 1983.

313. Salmena L, Carracedo A, Pandolfi PP. Tenets of PTEN suppression. Cell. 2008 May;2;133(3):403-14.

314. Engelman JA, Luo J, Cantley LC. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. Nat Rev Genet. 2006 Aug;7(8):606-19.

315. Carpten JD, Faber AL, Horn C, Donoho GP, Briggs SL, Robbins CM et al. A transforming mutation in the pleckstrin homology domain of AKT1 in cancer. Nature. 2007 Jul;26;448(7152):439-44.

316. COSMIC: Catalogue of somatic mutations in Cancer [Available from: <http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic>.

317. Mandelker D, Gabelli SB, Schmidt-Kittler O, Zhu J, Cheong I, Huang CH, et al. A frequent kinase domain mutation that changes the interaction between PI3K α and the membrane. Proc Natl Acad Sci USA. 2009 Oct;6;106(40):16996-7001. Epub 2009 Sep 23.

318. Samuels Y, Diaz LA, Schmidt-Kittler O, Cummins JM, Delong L, Cheong I, et al. Mutant PIK3CA promotes cell growth and invasion of human cancer cells. 2005 Jun;7(6):561-73.

319. Kang S, Bader AG, Vogt PK. Phosphatidylinositol 3-kinase mutations identified in human cancer are oncogenic. Proc Natl Acad Sci USA. 2005 Jan;18;102(3):802-7.

320. Isakoff SJ, Engelman JA, Irie HY, Luo J, Brachmann SM, Pearlman RV, et al. Breast cancer-associated PIK3CA mutations are oncogenic in mammary epithelial cells. Cancer Res. 2005;65(23):10992-1000. PubMed PMID: 16322248. eng.

321. Zhao JJ, Zhao JJ, Liu Z, Wang L, Shin E, Loda MF, et al. The oncogenic properties of p110 α and p110 β phosphatidylinositol 3-kinases in human mammary epithelial cells. The oncogenic properties of p110 α and p110 β phosphatidylinositol 3-kinases in human mammary epithelial cells. Proc Natl Acad Sci USA. 2005 Dec;20;102(51):18443-8. Epub 2005 Dec 8.

322. Karakas B, Bachman KE, Park BH. Mutation of the PIK3CA oncogene in human cancers. *Br J Cancer*. 2006;94(4):455-9. PubMed PMID: 16449998. eng.
323. Jia S, Roberts TM, Zhao JJ. Should individual PI3 kinasa isoforms be targeted in cancer? *Curr Opin Cell Biol*. 2009 Apr;21(2):199-208. Epub 2009 Feb 4.
324. Levine DA, Bogomolny F, Yee CJ, Lash A, Barakat RR, Borgen PI, et al. Frequent mutation of the PIK3CA gene in ovarian and breast cancers. *Clin Cancer Res*. 2005;11(8):2875-8. PubMed PMID: 15837735. eng.
325. Campbell IG, Russell SE, Choong DY, Montgomery KG, Ciavarella ML, Hooi CS, et al. Mutation of the PIK3CA gene in ovarian and breast cancer. *Cancer Res*. 2004;64(21):7678-81. PubMed PMID: 15520168. eng.
326. Li VS, Wong CW, Chan TL, Chan AS, Zhao W, Chu KM, et al. Mutations of PIK3CA in gastric adenocarcinoma. *BMC Cancer*. 2005;5:29. PubMed PMID: 15784156. eng.
327. Kita D, Yonekawa Y, Weller M, Ohgaki H. PIK3CA alterations in primary (de novo) and secondary glioblastomas. *Acta Neuropathol*. 2007 Mar;113(3):295-302. PubMed PMID: 17235514. Epub 2007/01/20. eng.
328. Gallia GL, Rand V, Siu IM, Eberhart CG, James CD, Marie SK, et al. PIK3CA gene mutations in pediatric and adult glioblastoma multiforme. *Mol Cancer Res*. 2006;4(10):709-14. PubMed PMID: 17050665. eng.
329. Dam V, Morgan BT, Mazanek P, Hogarty MD. Mutations in PIK3CA are infrequent in neuroblastoma. *BMC Cancer*. 2006;6:177. PubMed PMID: 16822308. eng.
330. Pang JC, Chung NY, Chan NH, Poon WS, Thomas T, Ng HK. Rare mutation of PIK3CA in meningiomas. *Acta Neuropathol*. 2006 Mar;111(3):284-5. PubMed PMID: 16463202. Epub 2006/02/08. eng.
331. Hartmann C, Bartels G, Gehlhaar C, Holtkamp N, von Deimling A. PIK3CA mutations in glioblastoma multiforme. *Acta Neuropathol*. 2005 Jun;109(6):639-42. PubMed PMID: 15924253. Epub 2005/06/01. eng.
332. Hartmann C, Devermann L, Gehlhaar C, Holtkamp N, von Deimling A. PIK3CA mutations in oligodendroglial tumours. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2006;32(2):209-12. PubMed PMID: 16599949. eng.
333. Mueller W, Mizoguchi M, Silen E, D'Amore K, Nutt CL, Louis DN. Mutations of the PIK3CA gene are rare in human glioblastoma. *Acta Neuropathol*. 2005 Jun;109(6):654-5. PubMed PMID: 15924252. Epub 2005/06/01. eng.
334. Broderick DK, Di C, Parrett TJ, Samuels YR, Cummins JM, McLendon RE, et al. Mutations of PIK3CA in anaplastic oligodendrogliomas, high-grade astrocytomas, and medulloblastomas. *Cancer Res*. 2004;64(15):5048-50. PubMed PMID: 15289301. eng.

335. Wu G, Mambo E, Guo Z, Hu S, Huang X, Gollin SM, et al. Uncommon mutation, but common amplifications, of the PIK3CA gene in thyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(8):4688-93. PubMed PMID: 15928251. eng.
336. Mouradov D, Domingo E, Gibbs P, Jorissen RN, Li S, Soo PY, et al. Survival in stage II/III colorectal cancer is independently predicted by chromosomal and microsatellite instability, but not by specific driver mutations. *Am J Gastroenterol*. 2013;108(11):1785-93. PubMed PMID: 24042191. eng.
337. Rosty C, Young JP, Walsh MD, Clendenning M, Sanderson K, Walters RJ, et al. PIK3CA activating mutation in colorectal carcinoma: associations with molecular features and survival. *PLoS One*. 2013;8(6):e65479. PubMed PMID: 23785428. eng.
338. Day FL, Jorissen RN, Lipton L, Mouradov D, Sakthianandeswaren A, Christie M, et al. PIK3CA and PTEN gene and exon mutation-specific clinicopathologic and molecular associations in colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2013;19(12):3285-96. PubMed PMID: 23633456. eng.
339. Nosho K, Kawasaki T, Ohnishi M, Suemoto Y, Kirkner GJ, Zepf D, et al. PIK3CA mutation in colorectal cancer: relationship with genetic and epigenetic alterations. *Neoplasia*. 2008 Jun;10(6):534-41. PubMed PMID: 18516290. PMCID: PMC2386538. Epub 2008/06/03. eng.
340. Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ, Shima K, Irahara N, Kure S, et al. PIK3CA mutation is associated with poor prognosis among patients with curatively resected colon cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27(9):1477-84. PubMed PMID: 19237633. eng.
341. Kato S, Iida S, Higuchi T, Ishikawa T, Takagi Y, Yasuno M, et al. PIK3CA mutation is predictive of poor survival in patients with colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2007 Oct 15;121(8):1771-8. PubMed PMID: 17590872. Epub 2007/06/26. eng.
342. Barault L, Veyrie N, Jooste V, Lecorre D, Chapusot C, Ferraz JM, et al. Mutations in the RAS-MAPK, PI(3)K (phosphatidylinositol-3-OH kinase) signaling network correlate with poor survival in a population-based series of colon cancers. *Int J Cancer*. 2008 May 15;122(10):2255-9. PubMed PMID: 18224685. Epub 2008/01/29. eng.
343. Eklof V, Wikberg ML, Edin S, Dahlin AM, Jonsson BA, Oberg A, et al. The prognostic role of KRAS, BRAF, PIK3CA and PTEN in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2013;108(10):2153-63. PubMed PMID: 23660947. eng.
344. Ligresti G, Militello L, Steelman LS, Cavallaro A, Basile F, Nicoletti F, et al. PIK3CA mutations in human solid tumors: role in sensitivity to various therapeutic approaches. *Cell Cycle*. 2009;8(9):1352-8. PubMed PMID: 19305151. eng.
345. Dupont Jensen J, Laenkholm AV, Knoop A, Ewertz M, Bandaru R, Liu W, et al. PIK3CA mutations may be discordant between primary and corresponding metastatic disease in breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2011;17(4):667-77. PubMed PMID: 20940279. eng.

346. Hollestelle A, Elstrodt F, Nagel JH, Kallemeijn WW, Schutte M. Phosphatidylinositol-3-OH kinase or RAS pathway mutations in human breast cancer cell lines. *Mol Cancer Res.* 2007;5(2):195-201. PubMed PMID: 17314276. eng.
347. Meyer DS, Brinkhaus H, Muller U, Muller M, Cardiff RD, Bentires-Alj M. Luminal expression of PIK3CA mutant H1047R in the mammary gland induces heterogeneous tumors. *Cancer Res.* 2011;71(13):4344-51. PubMed PMID: 21482677. eng.
348. Dumont AG, Dumont SN, Trent JC. The favorable impact of PIK3CA mutations on survival: an analysis of 2587 patients with breast cancer. *Chin J Cancer.* 2012;31(7):327-34. PubMed PMID: 22640628. eng.
349. Kalinsky K, Jacks LM, Heguy A, Patil S, Drobnjak M, Bhanot UK, et al. PIK3CA mutation associates with improved outcome in breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2009;15(16):5049-59. PubMed PMID: 19671852. eng.
350. Maruyama N, Miyoshi Y, Taguchi T, Tamaki Y, Monden M, Noguchi S. Clinicopathologic analysis of breast cancers with PIK3CA mutations in Japanese women. *Clin Cancer Res.* 2007;13(2 Pt 1):408-14. PubMed PMID: 17202311. eng.
351. Barbareschi M, Buttitta F, Felicioni L, Cotrupi S, Barassi F, Del Grammastio M, et al. Different prognostic roles of mutations in the helical and kinase domains of the PIK3CA gene in breast carcinomas. *Clin Cancer Res.* 2007;13(20):6064-9. PubMed PMID: 17947469. eng.
352. Perez-Tenorio G, Alkhori L, Olsson B, Waltersson MA, Nordenskjold B, Rutqvist LE, et al. PIK3CA mutations and PTEN loss correlate with similar prognostic factors and are not mutually exclusive in breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2007;13(12):3577-84. PubMed PMID: 17575221. eng.
353. Loi S, Haibe-Kains B, Majjaj S, Lallemand F, Durbecq V, Larsimont D, et al. PIK3CA mutations associated with gene signature of low mTORC1 signaling and better outcomes in estrogen receptor-positive breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(22):10208-13. PubMed PMID: 20479250. eng.
354. Michelucci A, Di Cristofano C, Lami A, Collecchi P, Caligo A, Decarli N, et al. PIK3CA in breast carcinoma: a mutational analysis of sporadic and hereditary cases. *Diagn Mol Pathol.* 2009 Dec;18(4):200-5. PubMed PMID: 19861897. Epub 2009/10/29. eng.
355. Boyault S, Drouet Y, Navarro C, Bachelot T, Lasset C, Treilleux I, et al. Mutational characterization of individual breast tumors: TP53 and PI3K pathway genes are frequently and distinctively mutated in different subtypes. *Breast Cancer Res Treat.* 2012 Feb;132(1):29-39. PubMed PMID: 21512767. Epub 2011/04/23. eng.
356. Saal LH, Holm K, Maurer M, Memeo L, Su T, Wang X, et al. PIK3CA mutations correlate with hormone receptors, node metastasis, and ERBB2, and are mutually exclusive with PTEN loss in human breast carcinoma. *Cancer Res.* 2005;65(7):2554-9. PubMed PMID: 15805248. eng.

357. Stemke-Hale K, Gonzalez-Angulo AM, Lluch A, Neve RM, Kuo WL, Davies M, et al. An integrative genomic and proteomic analysis of PIK3CA, PTEN, and AKT mutations in breast cancer. *Cancer Res.* 2008;68(15):6084-91. PubMed PMID: 18676830. eng.
358. Lai YL, Mau BL, Cheng WH, Chen HM, Chiu HH, Tzen CY. PIK3CA exon 20 mutation is independently associated with a poor prognosis in breast cancer patients. *Ann Surg Oncol.* 2008 Apr;15(4):1064-9. PubMed PMID: 18183466. Epub 2008/01/10. eng.
359. Li SY, Rong M, Grier F, Iacopetta B. PIK3CA mutations in breast cancer are associated with poor outcome. *Breast Cancer Res Treat.* 2006 Mar;96(1):91-5. PubMed PMID: 16317585. Epub 2005/12/01. eng.
360. Lerma E, Catus L, Gallardo A, Peiro G, Alonso C, Aranda I, et al. Exon 20 PIK3CA mutations decreases survival in aggressive (HER-2 positive) breast carcinomas. *Virchows Arch.* 2008 Aug;453(2):133-9. PubMed PMID: 18679714. Epub 2008/08/06. eng.
361. Oda K, Okada J, Timmerman L, Rodriguez-Viciano P, Stokoe D, Shoji K, et al. PIK3CA cooperates with other phosphatidylinositol 3'-kinase pathway mutations to effect oncogenic transformation. *Cancer Res.* 2008;68(19):8127-36. PubMed PMID: 18829572. eng.
362. Li H, Zhu R, Wang L, Zhu T, Li Q, Chen Q, et al. PIK3CA mutations mostly begin to develop in ductal carcinoma of the breast. *Exp Mol Pathol.* 2010;88(1):150-5. PubMed PMID: 19818761. eng.
363. Dunlap J, Le C, Shukla A, Patterson J, Presnell A, Heinrich MC, et al. Phosphatidylinositol-3-kinase and AKT1 mutations occur early in breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat.* 2010 Apr;120(2):409-18. PubMed PMID: 19418217. Epub 2009/05/07. eng.
364. Eng C. PTEN: one gene, many syndromes. *Hum Mutat.* 2003 Sep;22(3):183-98. PubMed PMID: 12938083. Epub 2003/08/26. eng.
365. Wang DS, Rieger-Christ K, Latini JM, Moinzadeh A, Stoffel J, Pezza JA, et al. Molecular analysis of PTEN and MXI1 in primary bladder carcinoma. *Int J Cancer.* 2000;88(4):620-5. PubMed PMID: 11058880. eng.
366. Aveyard JS, Skilleter A, Habuchi T, Knowles MA. Somatic mutation of PTEN in bladder carcinoma. *Br J Cancer.* 1999;80(5-6):904-8.
367. Platt FM, Hurst CD, Taylor CF, Gregory WM, Harnden P, Knowles MA. Spectrum of phosphatidylinositol 3-kinase pathway gene alterations in bladder cancer. *Clin Cancer Res.* 2009;15(19):6008-17. PubMed PMID: 19789314. eng.
368. Lopez-Knowles E, Hernandez S, Malats N, Kogevinas M, Lloreta J, Carrato A, et al. PIK3CA mutations are an early genetic alteration associated with FGFR3 mutations in superficial papillary bladder tumors. *Cancer Res.* 2006;66(15):7401-4. PubMed PMID: 16885334. eng.

369. Zhao L, Vogt PK. Helical domain and kinase domain mutations in p110alpha of phosphatidylinositol 3-kinase induce gain of function by different mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(7):2652-7. PubMed PMID: 18268322. eng.
370. Jebar AH, Hurst CD, Tomlinson DC, Johnston C, Taylor CF, Knowles MA. FGFR2 and Ras gene mutations are mutually exclusive genetic events in urothelial cell carcinoma. *Oncogene*. 2005;4;24(33):5218-25.
371. Shayesteh L, Lu Y, Kuo WL, Baldocchi R, Godfrey T, Collins C, et al. PIK3CA is implicated as an oncogene in ovarian cancer. *Nat Genet*. 1999 Jan;21(1):99-102.
372. Miyake T, Yoshino K, Enomoto T, Takata T, Ugaki H, Kim A, et al. PIK3CA gene mutations and amplifications in uterine cancers, identified by methods that avoid confounding by PIK3CA pseudogene sequences. *Cancer Lett*. 2008;261(1):120-6. PubMed PMID: 18180098. eng.
373. Janku F, Tsimberidou AM, Garrido-Laguna I, Wang X, Luthra R, Hong DS, et al. PIK3CA mutations in patients with advanced cancers treated with PI3K/AKT/mTOR axis inhibitors. *Mol Cancer Ther*. 2011;10(3):558-65. PubMed PMID: 21216929. eng.
374. Janku F, Lee JJ, Tsimberidou AM, Hong DS, Naing A, Falchook GS, et al. PIK3CA mutations frequently coexist with RAS and BRAF mutations in patients with advanced cancers. *PLoS One*. 2011;6(7):e22769. PubMed PMID: 21829508. eng.
375. Forbes SA, Bhamra G, Bamford S, Dawson E, Kok C, Clements J, et al. The Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC). *Curr Protoc Hum Genet*. 2008 Apr;36(4):E2423-9. PubMed PMID: 18428421. Epub 2008/04/23. eng.
376. Janku F, Wheeler JJ, Westin SN, Moulder SL, Naing A, Tsimberidou AM, et al. PI3K/AKT/mTOR inhibitors in patients with breast and gynecologic malignancies harboring PIK3CA mutations. *J Clin Oncol*. 2012;30(8):777-82. PubMed PMID: 22271473. eng.
377. Ihle NT, Lemos R, Jr., Wipf P, Yacoub A, Mitchell C, Siwak D, et al. Mutations in the phosphatidylinositol-3-kinase pathway predict for antitumor activity of the inhibitor PX-866 whereas oncogenic Ras is a dominant predictor for resistance. *Cancer Res*. 2009;69(1):143-50. PubMed PMID: 19117997. eng.
378. McIntyre JB, Wu JS, Craighead PS, Phan T, Kobel M, Lees-Miller SP, et al. PIK3CA mutational status and overall survival in patients with cervical cancer treated with radical chemoradiotherapy. *Gynecol Oncol*. 2013 Mar;128(3):409-14. PubMed PMID: 23266353. Epub 2012/12/26. eng.
379. Schwarz JK, Payton JE, Rashmi R, Xiang T, Jia Y, Huettner P, et al. Pathway-specific analysis of gene expression data identifies the PI3K/Akt pathway as a novel therapeutic target in cervical cancer. *Clin Cancer Res*. 2012;18(5):1464-71. PubMed PMID: 22235101. eng.

380. Cui B, Zheng B, Zhang X, Stendahl U, Andersson S, Wallin KL. Mutation of PIK3CA: possible risk factor for cervical carcinogenesis in older women. *Int J Oncol*. 2009 Feb;34(2):409-16. PubMed PMID: 19148475. Epub 2009/01/17. eng.
381. de la Rochefordiere A, Kamal M, Floquet A, Thomas L, Petrow P, Petit T, et al. PIK3CA Pathway Mutations Predictive of Poor Response Following Standard Radiochemotherapy +/- Cetuximab in Cervical Cancer Patients. *Clin Cancer Res*. 2015. PubMed PMID: 25724520. Eng.
382. Perrone F, Lampis A, Orsenigo M, Di Bartolomeo M, Gevorgyan A, Losa M, et al. PI3K-CA/PTEN deregulation contributes to impaired responses to cetuximab in metastatic colorectal cancer patients. *Ann Oncol*. 2009;20(1):84-90. PubMed PMID: 18669866. eng.
383. Tornesello ML, Annunziata C, Buonaguro L, Losito S, Greggi S, Buonaguro FM. TP53 and PIK3CA gene mutations in adenocarcinoma, squamous cell carcinoma and high-grade intraepithelial neoplasia of the cervix. *J Transl Med*. 2014;12:255. PubMed PMID: 25220666. eng.
384. Wright AA, Howitt BE, Myers AP, Dahlberg SE, Palescandolo E, Van Hummelen P, et al. Oncogenic mutations in cervical cancer: genomic differences between adenocarcinomas and squamous cell carcinomas of the cervix. *Cancer*. 2013 Nov 1;119(21):3776-83. PubMed PMID: 24037752. PMCID: PMC3972000. Epub 2013/09/17. eng.
385. Heselmeyer K, Schrock E, du Manoir S, Blegen H, Shah K, Steinbeck R, et al. Gain of chromosome 3q defines the transition from severe dysplasia to invasive carcinoma of the uterine cervix. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996 Jan 9;93(1):479-84. PubMed PMID: 8552665. PMCID: PMC40262. Epub 1996/01/09. eng.
386. Heselmeyer-Haddad K, Sommerfeld K, White NM, Chaudhri N, Morrison LE, Palanisamy N, et al. Genomic amplification of the human telomerase gene (TERC) in pap smears predicts the development of cervical cancer. *Am J Pathol*. 2005;166(4):1229-38. PubMed PMID: 15793301. eng.
387. Yang YC, Shyong WY, Chang MS, Chen YJ, Lin CH, Huang ZD, et al. Frequent gain of copy number on the long arm of chromosome 3 in human cervical adenocarcinoma. *Cancer Genet Cytogenet*. 2001;131(1):48-53. PubMed PMID: 11734318. eng.
388. Luhn P, Houldsworth J, Cahill L, Schiffman M, Castle PE, Zuna RE, et al. Chromosomal gains measured in cytology samples from women with abnormal cervical cancer screening results. *Gynecol Oncol*. 2013 Sep;130(3):595-600. PubMed PMID: 23769811. PMCID: PMC3833871. Epub 2013/06/19. eng.
389. Seppo A, Jalali GR, Babkowski R, Symiakaki H, Rodolakis A, Tafas T, et al. Gain of 3q26: a genetic marker in low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL) of the uterine cervix. *Gynecol Oncol*. 2009;114(1):80-3. PubMed PMID: 19394683. eng.

390. Spaans VM, Trietsch MD, Crobach S, Stelloo E, Kremer D, Osse EM, et al. Designing a high-throughput somatic mutation profiling panel specifically for gynaecological cancers. *PLoS One*. 2014;9(3):e93451. PubMed PMID: 24671188. eng.
391. Bertelsen BI, Steine SJ, Sandvei R, Molven A, Laerum OD. Molecular analysis of the PI3K-AKT pathway in uterine cervical neoplasia: frequent PIK3CA amplification and AKT phosphorylation. *Int J Cancer*. 2006 Apr 15;118(8):1877-83. PubMed PMID: 16287065. Epub 2005/11/16. eng.
392. Ma YY, Wei SJ, Lin YC, Lung JC, Chang TC, Whang-Peng J, et al. PIK3CA as an oncogene in cervical cancer. *Oncogene*. 2000 May;25(19):2739-44.
393. Henken FE, Banerjee NS, Snijders PJ, Meijer CJ, De-Castro Arce J, Rosl F, et al. PIK3CA-mediated PI3-kinase signalling is essential for HPV-induced transformation in vitro. *Mol Cancer*. 2011;10:71. PubMed PMID: 21663621. eng.
394. Oda K, Stokoe D, Taketani Y, McCormick F. High frequency of coexistent mutations of PIK3CA and PTEN genes in endometrial carcinoma. *Cancer Res*. 2005;65(23):10669-73. PubMed PMID: 16322209. eng.
395. Velasco A, Bussaglia E, Pallares J, Dolcet X, Llobet D, Encinas M, et al. PIK3CA gene mutations in endometrial carcinoma: correlation with PTEN and K-RAS alterations. *Hum Pathol*. 2006;37(11):1465-72. PubMed PMID: 16949921. eng.
396. Hayes MP, Wang H, Espinal-Witter R, Douglas W, Solomon GJ, Baker SJ, et al. PIK3CA and PTEN mutations in uterine endometrioid carcinoma and complex atypical hyperplasia. *Clin Cancer Res*. 2006;12(20 Pt 1):5932-5. PubMed PMID: 17062663. eng.
397. Ollikainen M, Gylling A, Puputti M, Nupponen NN, Abdel-Rahman WM, Butzow R, et al. Patterns of PIK3CA alterations in familial colorectal and endometrial carcinoma. *Int J Cancer*. 2007 Aug 15;121(4):915-20. PubMed PMID: 17471559. Epub 2007/05/02. eng.
398. Rudd ML, Price JC, Fogoros S, Godwin AK, Sgroi DC, Merino MJ, et al. A unique spectrum of somatic PIK3CA (p110alpha) mutations within primary endometrial carcinomas. *Clin Cancer Res*. 2011;17(6):1331-40. PubMed PMID: 21266528. eng.
399. Catasus L, Gallardo A, Cuatrecasas M, Prat J. PIK3CA mutations in the kinase domain (exon 20) of uterine endometrial adenocarcinomas are associated with adverse prognostic parameters. *Mod Pathol*. 2008;21(2):131-9. PubMed PMID: 18084252. eng.
400. Dutt A, Salvesen HB, Chen TH, Ramos AH, Onofrio RC, Hatton C, et al. Drug-sensitive FGFR2 mutations in endometrial carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(25):8713-7. PubMed PMID: 18552176. eng.
401. Samuels Y, Ericson K. Oncogenic PI3K and its role in cancer. *Curr Opin Oncol*. 18. United States 2006. p. 77-82.

402. Buttitta F, Felicioni L, Barassi F, Martella C, Paolizzi D, Fresu G, et al. PIK3CA mutation and histological type in breast carcinoma: high frequency of mutations in lobular carcinoma. *J Pathol.* 2006 Feb;208(3):350-5. PubMed PMID: 16353168. Epub 2005/12/15. eng.
403. Frattini M, Signoroni S, Pilotti S, Bertario L, Benvenuti S, Zanon C, et al. Phosphatase protein homologue to tensin expression and phosphatidylinositol-3 phosphate kinase mutations in colorectal cancer. *Cancer Res.* 2005;65(23):11227. PubMed PMID: 16322273. eng.
404. Corso G, Velho S, Paredes J, Pedrazzani C, Martins D, Milanezi F, et al. Oncogenic mutations in gastric cancer with microsatellite instability. *Eur J Cancer.* 2011;47(3):443-51. PubMed PMID: 20937558. eng.
405. Barbi S, Cataldo I, De Manzoni G, Bersani S, Lamba S, Mattuzzi S, et al. The analysis of PIK3CA mutations in gastric carcinoma and metanalysis of literature suggest that exon-selectivity is a signature of cancer type. *J Exp Clin Cancer Res.* 2010;29:32. PubMed PMID: 20398348. eng.
406. Shi J, Yao D, Liu W, Wang N, Lv H, Zhang G, et al. Highly frequent PIK3CA amplification is associated with poor prognosis in gastric cancer. *BMC Cancer.* 2012;12:50. PubMed PMID: 22292935. eng.
407. Yang Q, Shao Y, Shi J, Qu Y, Wu K, Dang S, et al. Concomitant PIK3CA amplification and RASSF1A or PAX6 hypermethylation predict worse survival in gastric cancer. *Clin Biochem.* 2014 Jan;47(1-2):111-6. PubMed PMID: 24505629. Epub 2014/02/08. eng.
408. Byun DS, Cho K, Ryu BK, Lee MG, Park JI, Chae KS, et al. Frequent monoallelic deletion of PTEN and its reciprocal association with PIK3CA amplification in gastric carcinoma. *Int J Cancer.* 2003 Apr 10;104(3):318-27. PubMed PMID: 12569555. Epub 2003/02/06. eng.
409. Singh B, Reddy PG, Guberhan A, Walsh C, Dao S, Ngai I, et al. p53 regulates cell survival by inhibiting PIK3CA in squamous cell carcinomas. *Genes Dev.* 2002 Apr 15;16(8):984-93. PubMed PMID: 11959846. PMCID: PMC152354. Epub 2002/04/18. eng.
410. Yu HG, Ai YW, Yu LL, Zhou XD, Liu J, Li JH, et al. Phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway plays an important role in chemoresistance of gastric cancer cells against etoposide and doxorubicin induced cell death. *Int J Cancer.* 2008 Jan 15;122(2):433-43. PubMed PMID: 17935137. Epub 2007/10/16. eng.
411. Qu JL, Qu XJ, Zhao MF, Teng YE, Zhang Y, Hou KZ, et al. Gastric cancer exosomes promote tumour cell proliferation through PI3K/Akt and MAPK/ERK activation. *Dig Liver Dis.* 2009;41(12):875-80. PubMed PMID: 19473897. eng.
412. Michl P, Downward J. Mechanisms of disease: PI3K/AKT signaling in gastrointestinal cancers. *Z Gastroenterol.* 2005;43(10):1133-9.

413. Hou P, Liu D, Shan Y, Hu S, Studeman K, Condouris S, et al. Genetic alterations and their relationship in the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in thyroid cancer. *Clin Cancer Res.* 2007;13(4):1161-70. PubMed PMID: 17317825. eng.
414. Ji M, Guan H, Gao C, Shi B, Hou P. Highly frequent promoter methylation and PIK3CA amplification in non-small cell lung cancer (NSCLC). *BMC Cancer.* 2011;11:147. PubMed PMID: 21507233. eng.
415. Stransky N, Egloff AM, Tward AD, Kostic AD, Cibulskis K, Sivachenko A, et al. The mutational landscape of head and neck squamous cell carcinoma. *Science.* 2011 Aug;26(333)6046:1157-60.
416. Agrawal N, Frederick MJ, Pickering CR, Bettegowda C, Chang K, Li RJ, et al. Exome sequencing of head and neck squamous cell carcinoma reveals inactivating mutations in NOTCH1. *Science.* 2011 Aug;26(333)6046:1154-7.
417. Bancroft CC, Chen Z, Yeh J, Sunwoo JB, Yeh NT, Jackson S, et al. Effects of pharmacologic antagonists of epidermal growth factor receptor, PI3K and MEK signal kinases on NF-kappaB and AP-1 activation and IL-8 and VEGF expression in human head and neck squamous cell carcinoma lines. *Int J Cancer.* 2002 Jun;99(4):538-48.
418. Grandis JR, Drenning SD, Chakraborty A, Zhou MY, Zeng Q, Pitt AS, et al. Requirement of Stat3 but not Stat1 activation for epidermal growth factor receptor-mediated cell growth in vitro. *J Clin Invest.* 1998 Oct;102(7):1385-92.
419. Lui VW, Hedberg ML, Li H, Vangara BS, Pendleton K, Zheng Y, et al. Frequent mutation of the PI3K pathway in head and neck cancer defines predictive biomarkers. *Cancer Discov.* 2013 Jul;3(7):761-9.
420. Qiu W, Schönleben F, Li X, Ho DJ, Close LG, Manolidis S, et al. PIK3CA mutations in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2006 Mar;12(5):1441-6.
421. Forbes SA, Tang G, Bindal N, Bamford S, Dawson E, Cole C, et al. COSMIC (the catalogue of somatic mutations in cancer): a resource to investigate acquired mutations in human cancer. *Nucleic Acids Res.* 2010 Jan;38(Database issue):D652-7.
422. Murugan AK, Hong NT, Fukui, Munirajan AK, Tsuchida N. Oncogenic mutations of the PIK3CA gene in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Oncol.* 2008 Jan;32(1):101-11.
423. Qiu W, Tong GX, Manolidis S, Close LG, Assaad AM, Su GH. Novel mutant-enriched sequencing identified high frequency of PIK3CA mutations in pharyngeal cancer. *Int J Cancer.* 2008 Mar;122(5):1189-94.
424. Levi S, Urbano-Ispizua A, Gill R, Thomas DM, Gilbertson J, Foster C, et al. Multiple K-ras codon 12 mutations in cholangiocarcinomas demonstrated with a sensitive polymerase chain reaction technique. *Cancer Res.* 1991;51:3497-502.

425. Nakahori S, Yokosuka O, Ehata T, Chuang WL, Imazeki F, Ito Y, et al. Detection of hepatitis B virus precore stop codon mutants by selective amplification method: frequent detection of precore mutants in hepatitis B e antigen positive healthy carriers. *J Gastroenterol Hepatol*. 1995;10:419-25.
426. Murugan AK, Munirajan AK, Tsuchida N. Genetic deregulation of the PIK3CA oncogene in oral cancer. *Cancer Lett*. 2013 Sep;28(338)2:193-203.
427. Morris LG, Taylor BS, Bivona TG, Gong Y, Eng S, Brennan CW, et al. Genomic dissection of the epidermal growth factor receptor (EGFR)/PI3K pathway reveals frequent deletion of the EGFR phosphatase PTPRS in head and neck cancers. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011 Nov;22(108)47:19024-9.
428. Kozaki K, Imoto I, Pimkhaokham A, Hasegawa S, Tsuda H, Omura K, et al. PIK3CA mutation is an oncogenic aberration at advanced stages of oral squamous cell carcinoma. *Cancer Sci*. 2006 Dec;97(12):1351-8.
429. Ikenoue T, Kanani F, Hikiba Y, Obata T, Tanaka Y, Imamura J, et al. Functional analysis of PIK3CA gene mutations in human colorectal cancer. *Cancer Res*. 2005;65:4562-7.
430. Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, Gross BE, Sumer SO, Aksoy BA, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov*. 2012 May;2(5):401-4.
431. Pedrero JM, Carracedo DG, Pinto CM, Zapatero AH, Rodrigo JP, Nieto CS, et al. Frequent genetic and biochemical alterations of the PI3K/AKT/PTEN pathway in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer*. 2005 Mar;20;114(2):242-8.
432. Chen Q, Samaranayake LP, Zhou H, Xiao L. Homozygous deletion of the PTEN tumor-suppressor gene is not a feature in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*. 2000;36:95-9.
433. McBride SM, Rothenberg SM, Faquin WC, Chan AW, Clark JR, Ellisen LW, et al. Mutation frequency in 15 common cancer genes in high-risk head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). *Head Neck*. 2014 Aug;36(8):1181-88.
434. Giudice FS, Squarize CH. The determinants of head and neck cancer: unmasking the PI3K pathway mutations. *J Carcinog Mutagen*. 2013 Aug;2(5)
435. Fenic I, Steger K, Gruber C, Arens C, Woenckhaus J. Analysis of PIK3CA and Akt/protein kinase B in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncol Rep*. 2007 Jul;18(1):253-9.
436. Woenckhaus J, Steger K, Werner E, Fenic I, Gamberdinger U, Dreyer T, et al. Genomic gain of PIK3CA and increased expression of p110alpha are associated with progression of dysplasia into invasive squamous cell carcinoma. *J Pathol*. 2002 Nov;198(3):335-42.

437. Stilo CL, O-Charoenrat P, Ngai I, Patel SG, P.G. R, Dao S, et al. The role of novel oncogenes squamous cell carcinoma-related oncogene and phosphatidylinositol 3-kinase p110alpha in squamous cell carcinoma of the oral tongue. *Clin Cancer Res*. 2003 Jun;9(6):2300-6.
438. Redon R, Muller D, Caulee K, Wanherdrick K, Abecassis J, Du Manoir S. A simple specific pattern of chromosomal aberrations at early stages of head and neck squamous cell carcinomas: PIK3CA but not p63 gene as a likely target of 3q26-qter gains. *Cancer Res*. 2001 May;15;61(10):4122-9.
439. Singh B, Stofferl A, Gogineni S, Poluri A, Pfister DG, Shaha AR, et al. Amplification of the 3q26.3 locus is associated with progression to invasive cancer and is a negative prognostic factor in head and neck squamous cell carcinomas. *Am J Pathol*. 2002 Aug;161(2):365-71.
440. Liehr T, Ries J, Wolff E, Fiedler W, Dahse R, Ernst G, et al. Gain of DNA copy number on chromosomes 3q26-qter and 5p14-pter is a frequent finding in head and neck squamous cell carcinomas. *Int J Mol Med*. 1999 Aug;2(2):173-9.
441. Hashimoto Y, Oga A, Kawauchi S, Furuya T, Shimizu N, Nakano T, et al. Amplification of 3q26 approximately qter correlates with tumor progression in head and neck squamous cell carcinomas. *Cancer Genet Cytogenet*. 2001 Aug;129(1):52-6.
442. Akagi I, Miyashita M, Makino H, Nomura T, Hagiwara N, al e. Overexpression of PIK-3CA is associated with lymph node metastasis in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol*. 2009;34:767-75.
443. Aleskandarany MA, Rakha EA, Ahed MA, Powe DG, Paish EC, al e. PIK3CA expression in invasive breast cancer: a biomarker of poor prognosis. *Breast Cancer Res Treat*. 2010;122:45-53.
444. Renner O, Blanco-Aparicio C, Grassow M, Canamero M, Leal JF, al e. Activation of phosphatidylinositol 3-kinase by membrane localization of p11alpha predisposes mammary glands to neoplastic transformation. *Cancer Res*. 2008;68:9643-53.
445. Bockmühl U, Schwendel A, Dietel M, Petersen I. Distinct patterns of chromosomal alterations in high- and low-grade head and neck squamous cell carcinomas. 1996 Dec. *Cancer Res*;1;56(23):5325-9.
446. Subo J, Bryne M, Johannessen AC, Kildal W, Danielsen HE, Reith A. Comparison of histological grading and large-scale genomic status (DNA ploidy) as prognostic tools in oral dysplasia. *J Pathol*. 2001 Jul;194(3):303-10.
447. Singh B, Gogineni SK, Sacks PG, Shaha AR, Shah JP, Stoffel A, et al. Molecular cytogenetic characterization of head and neck squamous cell carcinoma and refinement of 3q amplification. *Cancer Res*. 2001 Jun;1;61(11):4506-13.

448. Brzoska PM, Levin NA, Fu KK, Kaplan MJ, Snger MI, Gray JW, et al. Frequent novel copy number increase in squamous cell head and neck tumors. *Cancer Res.* 1995 Jul;15;55(14):3055-9.
449. Bergamo N, Rogatto SR, Poli-Frederico RC, Reis PP, Kowalski LP, Zielenska M, et al. Comparative genome hybridization analysis detects frequent over-representation of DNA sequences at 3q, 7p and 8q in head and neck carcinomas. *Cancer Genet Cytogenet.* 2000 May;119(1):48-55.
450. Kostakis GC, Papadogeorgakis N, Koumaki V, Kamakari S, Koumaki D, Alexandridis C. Absence of hotspot mutations in exons 9 and 20 of the PIK3CA gene in human oral squamous cell carcinoma in the greek population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010 May;109(5):e53-8.
451. Suda T, Hama S, Kondo Y, Yuza M, Yosikawa M, Urashima T, et al. Copy number amplification of the PIK3CA gene is associated with poor prognosis in non-lymph node metastatic head and neck squamous cell carcinoma. *BMC Cancer.* 2012 Sep;20;12:416.
452. Cohen Y, Goldenberg-Cohen N, Shalmon B, Shani T, Oren S, Amariglo N, et al. Mutational analysis of PTEN/PIK3CA/AKT pathway in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2011 Oct;47(10):946-50.
453. Bruckman KC, Schönleben F, Qiu W, Woo VL, Su GH. Mutational analyses of the BRAF, KRAS, and PIK3CA genes in oral squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010 Nov.
454. Chang YS, Hsu HT, Ko YC, Yeh KT, Chang SJ, Lin CY, et al. Combined mutational analysis of RAS, BRAF, PIK3CA, and TP53 genes in taiwanese patients with oral squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2014 Jul;118(1):110-16.
455. Haffty BG, Silber A, Matloff E, Chung J, Lannin D. Racial differences in the incidence of BRCA1 and BRCA2 mutations in a cohort of early onset breast cancer patients: african american compared to white women. *J Med Genet.* 2006 Feb;43(2):133-7.
456. Pettaway CA. Racial differences in the androgen/androgen receptor pathway in prostate cancer. 1999 Dec;91(12):653-60.
457. Lai H, Lai S, Ma F, Meng L, Trapido E. Prevalence and spectrum of p53 mutations in white hispanic and non-hispanic women with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2003 Sep;81(1):53-60.
458. Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, Nomura M, Suzuki M, Wistuba II, et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J Natl Cancer Inst.* 2005 Mar;2;97(5):339-46.
459. Vanhaesebroeck B, Leever SJ, Ahmadi K, Timms J, Katso R, Driscoll R, et al. Synthesis and function of 3-phosphorylated inositol lipids. *Annu Rev Biochem.* 2001;70:535-602.

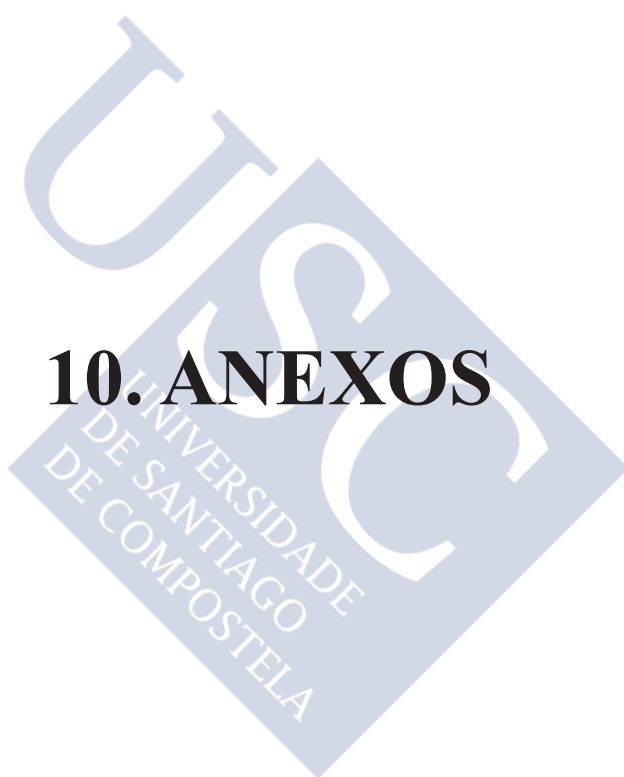
460. Kang S, Denley A, Vanhaesebroeck B, Vogt PK. Oncogenic transformation induced by the p110beta,-gamma, and-delta isoforms of class I phosphoinositide 3-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006 Jan;31;103(5):1289-94.
461. Shekar SC, Wu H, Fu Z, Yip SC, Nagajyothi B, Cahill SM, et al. Mechanism of constitutive phosphoinositide 3-kinase activation by oncogenic mutants of the p85 regulatory subunit. *J Biol Chem*. 2005 Jul;29;280(30):2780-5.
462. Huang CH, Mandelker D, Schmidt-Kittler O, Samuels Y, Velculescu VE, Kinzler KW, et al. The structure of a human p110alpha/p85 complex elucidates the effects of oncogenic PI3CA mutations. *Science*. 2007 Dec;14;318(5857):1744-8.
463. Blume-Jensen P, Hunter T. Oncogenic kinase signaling. *Nature*. 2001 May; 17; 411(6835): 355-65.
464. Huang CH, Mandelker D, Gabelli SB, Amzel LM. Insights into the oncogenic effects of PIK3A mutations from the structure of p110alpha/p85alpha. *Cell Cycle*. 2008 May;1;7(9):1151-6.
465. Bader AG, Kang S, Zhao L, Vogt PK. Oncogenic PI3K deregulates transcription and translation. *Nat Rev Cancer*. 2005 Dec;5(12):921-9.
466. Gymnopoulos M, Elsliger PK, Vogt PK. Rare cancer-specific mutations in pIK3CA show gain of function. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007 Mar;27;104(13):5569-74.
467. Riazimand SH, Welkoborsky HJ, Bernauer HS, Jacob R, Mann WJ. Investigations for fine mapping of amplifications in chromosome 3q26.3-28 frequently occurring in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Oncology*. 2002;63(4):385-92.
468. Miyahara Y. Correlation of DNA copy number changes to malignancy in oral squamous cell carcinomas by comparative genomic hybridization. *Kokubyo Gakkai Zasshi*. 2000 Jun;67(2):193-200.
469. Squire JA, Bayani J, Luk C, Unwin L, Tokynaga J, MacMillan C, et al. Molecular cytogenetic analysis of head and neck squamous cell carcinoma: by comparative genomic hybridization, spectral karyotyping, and expression array analysis. *Head Neck*. 2002 Sep;24(9):874-87.
470. Singh B, Gogineni A, Goberdhan A, Sacks P, Shaha A, Shah J, et al. Spectral karyotyping analysis of head and neck squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*. 2001 Sep;111(9):1545-50.
471. Tu HF, Chang KW, Chiang WF, Liu CJ, Yu EH, Liu ST, et al. The frequent coexpression of the oncogenes PIK3CA and PAK1 in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncology*. 2011 Mar;47(3):211-6.
472. Sequeiros-Santiago G, García-Carracedo D, Fresno MF, Suarez C, Rodrigo JP, González MV. Oncogene amplification pattern in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Oncology Rep*. 2009 May;21(5):1215-22.

473. Okafuji M, Ita M, Hayatsu Y, Shinozaki F, Oga A, Sasaki K, et al. Identification of genetic aberrations in cell lines from oral squamous cell carcinomas by comparative genomic hybridization. *J Oral Pathol Med*. 1999 Jul;28(6):241-5.
474. Bockmühl U, Schlüns K, Schmidt S, Matthias S, Petersen I. Chromosomal alterations during metastasis formation of head and neck squamous cell carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer*. 2002 Jan;33(1):29-35.
475. Worsham MJ, Pals G, Schouten JP, Van Spaendonk RM, Concus A, Carey TE, et al. Delineating genetic pathways of disease progression in head and neck squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003 Jul;129(7):702-8.
476. Brunin F, Mosseri V, Jaulerry C, Point D, Cosset JM, Rodriguez J, et al. Phase II multicenter study of the antiepidermal growth factor receptor monoclonal antibody cetuximab in combination with platinum-based chemotherapy in patients with platinum-refractory metastatic and/or recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol* 2005, 23, (24), 5568-77. Cancer of the base of the tongue: past and future. *Head Neck*. 1999;21(8):751-9.
477. Encuesta de Salud de la CA del País Vasco 2002. In: Vasco SCdPdG, editor. Vitoria-Gasteiz 2004. p. 224-6.
478. Van der Waal I, Scully C. Concepto y clasificación de las lesiones y condiciones precancerosas orales. En: *Cancer y precancer oral. Bases clínico-quirúrgicas y moleculares*. Bascones A, Seoane JM, Aguado A, Suarez JM.: Avances; 2003.
479. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, Mackenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 1987; 40(5): 373-38. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis*. 1987;40(5):373-38.
480. Milián A, González MA. Tumores malignos de la mucosa oral. *Medicina Oral*. 1995:186-201.
481. Klein CA. Cancer. The metastasis cascade. *Science*. 2008;321 (5897):1785-7.
482. Chiang AC, Massagué J. Molecular of metastasis. *New Engl J Med*. 2008;359(26):2814-23.
483. Ley Orgánica 15/1999, de 13 de Diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.
484. Shah S, Shah S, Padh H, Kakia K. Genetic alterations of the PIK3CA oncogene in human oral squamous cell carcinoma in an Indian population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2015 Nov;120(5):628-35. Epub 2015 Aug 11.

485. Patmore HS, Ashman JN, Stafford ND, Berrieman HK, MacDonald A, Greenman J, et al. Genetic analysis of head and neck squamous cell carcinoma using comparative genomic hybridisation identifies specific aberrations associated with laryngeal origin. *Cancer Lett.* 2007 Dec 8;258(1):55-62.
486. Liu CJ, Lin SC, Chen YJ, Chang KM, Chang KW. Array-comparative genomic hybridization to detect genomewide changes in microdissected primary and metastatic oral squamous cell carcinomas. *Mol Carcinog.* 2006 Oct;45(10):721-31.
487. Tsui IF, Poh CF, Garnis C, Rosin MP, Zhang L, Lam WL. Multiple pathways in the FGF signaling network are frequently deregulated by gene amplification in oral dysplasias. *Int J Cancer.* 2009 Nov 1;125(9):2219-28.
488. Salahshourifar I, Vincent-Chong VK, Kallarakkal TG, Zain RB. Genomic DNA copy number alterations from precursor oral lesions to oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2014 May;50(5):404-12. Epub 2014 Mar 7.
489. Tsui IF, Rosin MP, Zhang L, Ng RT, Lam WL. Multiple aberrations of chromosome 3p detected in oral premalignant lesions. *Cancer Prev Res (Phila).* 2008 Nov;1(6):424-9.
490. Garnis C, Chari R, Buys TP, Zhang L, Ng RT, Rosin MP, et al. Genomic imbalances in precancerous tissues signal oral cancer risk. *Mol Cancer.* 2009 Jul 23;8:50.
491. Noutomi Y, Oga A, Uchida K, Okafuji M, Ita M, Kawauchi S, et al. Comparative genomic hybridization reveals genetic progression of oral squamous cell carcinoma from dysplasia via two different tumorigenic pathways. *J Pathol.* 2006;210(1):67-74.
492. Cha JD, Kim HJ, Cha IH. Genetic alterations in oral squamous cell carcinoma progression detected by combining array-based comparative genomic hybridization and multiplex ligation-dependent probe amplification. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011 May;111(5):594-607. Epub 2011 Feb 22.



10. ANEXOS





10.ANEXOS

10.1 HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

HOJA DE INFORMACIÓN AL PARTICIPANTE

TÍTULO:

Análisis genómico de cáncer oral humano para la validación de un modelo murino de cáncer oral como herramienta para terapias preclínicas antitumorales.

INVESTIGADOR:

**José Luis López-Cedrún Cembranos. Jefe de Servicio.
Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial.
Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña.**

Este documento tiene por objeto ofrecerle información sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. Este estudio se está realizando en el Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial del Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña y fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia.

Si decide participar en el mismo, debe recibir información personalizada del investigador, leer antes este documento y hacer todas las preguntas que precise para comprender los detalles sobre el mismo. Si así lo desea, puede llevarse el documento, consultarlo con otras personas, y tomar el tiempo necesario para decidir si participa o no.

La participación en este estudio es completamente voluntaria. Vd. puede decidir no participar o, si acepta hacerlo, cambiar de parecer retirando el consentimiento en cualquier momento sin tener que dar explicaciones. Le aseguramos que esta decisión no afectará a la relación con su médico ni a la asistencia sanitaria a la que Vd. tiene derecho.

¿Cuál es el propósito del estudio?

Este estudio tiene como objetivo estudiar la presencia de determinados cambios genéticos que pudieran influir en la evolución de su lesión, y por consiguiente en el tipo de seguimiento y tratamiento a seguir.

¿Por que me ofrecen participar a mí?

La selección de las personas invitadas a participar depende de unos criterios que están descritos en el protocolo de la investigación. Estos criterios sirven para seleccionar a la población en la que se responderá el interrogante de la investigación. A Vd. se le invita a participar porque cumple esos criterios.

Los criterios que empleamos para la selección de los pacientes son presentar lesiones orales diagnosticadas en una de estas dos categorías: lesión cancerizable (es la que puede convertirse en maligna con el paso del tiempo), y lesión cancerosa de la cavidad oral.

Se espera que participen 150 personas en este estudio.

¿En que consiste mi participación?

La rutina habitual para diagnosticar la lesión que Vd. presenta es realizar una biopsia, extrayendo un fragmento de la lesión y realizando un estudio microscópico para analizarlo (estudio anatomopatológico). La obtención de la biopsia de su lesión de la boca será realizada bajo anestesia local. La muestra obtenida será procesada para obtener el diagnóstico histopatológico (permite saber si es maligno o no, y el grado de malignidad).

En función del diagnóstico obtenido con el estudio anatomopatológico se le indicará el tipo de tratamiento más apropiado para su caso y también las revisiones y pruebas necesarias en el seguimiento.

Además del protocolo habitual mencionado, en la misma biopsia se preservará un fragmento para poder realizar un análisis genómico (para estudiar si hay alteraciones en los genes). Las muestras enviadas para el análisis genómico de las células no van identificadas con sus datos personales sino con un código especial asignado por nosotros para garantizar la confidencialidad de todos sus datos. Este estudio puede indicarnos la presencia de determinados cambios genéticos que pudieran influir en la evolución de su lesión; en cuyo caso se le informará detalladamente de los hallazgos y de los posibles cambios en su seguimiento.

Su participación tendrá una duración total estimada variable, dependiendo del tipo de lesión que presente. Si se trata de una lesión maligna, el seguimiento es para siempre. Si se trata de una lesión benigna, hasta que desaparezca la lesión o de forma indefinida.

El investigador puede decidir finalizar el estudio antes de lo previsto o interrumpir su participación por aparición de nueva información relevante, por motivos de seguridad, o por incumplimiento de los procedimientos del estudio.

¿Qué riesgos o inconvenientes tiene?

La participación en el estudio no comporta riesgos ni inconvenientes, excepto los propios de la biopsia que se le practica, que hay que realizarla en todos los casos, aunque decida no participar en este estudio.

¿Obtendré algún beneficio por participar?

No se espera que Vd. obtenga beneficio directo por participar en el estudio. La investigación pretende descubrir aspectos desconocidos o poco claros sobre el comportamiento de las lesiones cancerosas y precancerosas de la cavidad oral. En el futuro, es posible que estos descubrimientos sean de utilidad para conocer mejor las enfermedades y quizá puedan beneficiar a personas como Vd., pero no se preveen aplicaciones inmediatas de ellos.

Este estudio puede indicarnos la presencia de determinados cambios genéticos que pudieran influir en la evolución de su lesión; en cuyo caso se le informará detalladamente de los hallazgos y de los posibles cambios en su seguimiento. De cualquier forma, el estudio aportará información valiosa para el futuro seguimiento y tratamiento de pacientes que padecen una enfermedad como la suya.

¿Recibiré la información que se obtenga del estudio?

Si Vd. lo desea, se le facilitará un resumen de los resultados del estudio.

También podrá recibir los resultados de las pruebas que se le practiquen si así lo solicita. Estos resultados pueden no tener aplicación clínica ni una interpretación clara, por lo que, si quiere disponer de ellos, deberían ser comentados con el médico del estudio.

Algunos resultados de pruebas genéticas podrían descubrir ciertas condiciones que afecten en el futuro a su salud. Estas condiciones podrían ser compartidas por familiares suyos. Llegado el caso, sería conveniente que Vd. les transmita esta información.

¿Se publicarán los resultados de este estudio?

Los resultados de este estudio serán remitidos a publicaciones científicas para su difusión, pero no se transmitirá ningún dato que pueda llevar a la identificación de los participantes.

¿Cómo se protegerá la confidencialidad de mis datos?

El tratamiento, comunicación y cesión de sus datos se hará conforme a lo dispuesto por la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal. En todo momento, Vd. podrá acceder a sus datos, corregirlos o cancelarlos.

Sólo el equipo investigador y las autoridades sanitarias, que tienen el deber de guardar la confidencialidad, tendrán acceso a todos los datos recogidos por el estudio. Se podrá transmitir a terceros información que no pueda ser identificada. En caso de que alguna información sea transmitida a otros países, se realizará con un nivel de protección de los datos equivalente, como mínimo, al exigido por la normativa de nuestro país.

¿Que ocurrirá con las muestras obtenidas?

Sus muestras y los datos asociados serán guardados de forma codificada, que quiere decir que poseen un código que se puede relacionar, mediante una información, con la identificación del donante. Esta información está a cargo del investigador principal y sólo pueden acceder a ella los miembros del equipo investigador y las autoridades sanitarias en el ejercicio de sus funciones.

El responsable de la custodia de las muestras es Ramón García Escudero, y serán almacenadas en el Centro de Investigaciones Energéticas, Ambientales y Tecnológicas (CIEMAT - Madrid) durante el tiempo necesario para terminar el estudio, que son 5 años. Al terminar el estudio, las muestras serán destruidas.

¿Existen intereses económicos en este estudio?

El investigador no recibirá retribución específica por la dedicación al estudio.

Vd. no será retribuido por participar.

Es posible que de los resultados del estudio se deriven productos comerciales o patentes. En este caso, Vd. no participará de los beneficios económicos originados.

¿Quién me puede dar más información?

Puede contactar con el Dr. José Luis López-Cedrún Cembranos, en el Servicio de Cirugía Maxilofacial en el teléfono 981-178000 (extensión 292013) para más información.

Muchas gracias por su colaboración.



10.2 CONSENTIMIENTO INFORMADO**HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Estudio: Análisis genómico de cáncer oral humano para la validación de un modelo murino de cáncer oral como herramienta para terapias preclínicas antitumorales

Yo, _____
(NOMBRE Y APELLIDOS)

He recibido la hoja de información

He podido hacer preguntas sobre el estudio

He recibido respuesta satisfactoria a mis preguntas

He recibido suficiente información sobre el estudio

He hablado con _____
(NOMBRE Y APELLIDOS DEL INVESTIGADOR)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones

3º Sin que esto repercuta en mi atención estomatológica

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

_____, ____ de _____ de 20____

Firma del participante:

10.3 ÍNDICE DE CHARLSON

Weight	Clinical condition
1	Myocardial infarct Congestive cardiac insufficiency Peripheral vascular disease Dementia Cerebrovascular disease Chronic pulmonary disease Conjunctive tissue disease Slight diabetes, without complications Ulcers Chronic diseases of the liver or cirrhosis
2	Hemiplegia Moderate or severe kidney disease Diabetes with complications Tumors Leukemia Lymphoma
3	Moderate or severe liver disease
6	Malignant tumor, metastasis Aids

10.4 APROBACIÓN POR PARTE DEL COMITÉ DE ÉTICA



XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE SANIDADE
Secretaría Xeral

Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia
Edificio Administrativo de San Lázaro
15781 SANTIAGO DE COMPOSTELA
Tlf: 881 546425 Fax: 881 541804
ceic@sergas.es

DITAME DO COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE GALIZA

D. Rosendo Bugarín González, Presidente do Comité Ético de Investigación Clínica de Galiza

CERTIFICA:

Que este Comité avaliou na súa reunión do día 25/03/2010 o estudo:

Título: Análisis genómico de cáncer oral humano para la validación de un modelo murino de cáncer oral como herramienta para terapias preclínicas antitumorales

Promotor: José Luis López-Cedrún Cembranos

Código do Promotor:

Código de Rexistro CEIC de Galicia: 2009/440

Que se cumpren os requisitos éticos aplicábeis a este tipo de estudos, están xustificadas os riscos e molestias previsíbeis para o suxeito e é adecuado o procedemento para obter o consentimento informado.

E que este Comité acepta, de conformidade cos seus Procedementos Normalizados de Traballo, que o devandito estudo sexa realizado nos seguintes centros:

Centros	Investigadores principais
C.H. Universitario de A Coruña	José Luis López-Cedrún Cembranos

Santiago de Compostela, a 07 de abril de 2010

O Presidente

Rosendo Bugarín González



11 ÍNDICE DE TABLAS





11 ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Incidencia del cáncer de labio y cavidad oral en los distintos países de Europa en el 2012.

Tabla 2. Mortalidad del cáncer de labio y cavidad oral en los distintos países de Europa en el 2012.

Tabla 3. Probabilidad de transformación maligna de las distintas condiciones y lesiones precancerosas.

Tabla 4. Resultados descriptivos para las variables demográficas para la muestra del total de pacientes.

Tabla 5. Resultados descriptivos para las variables etiológicas para la muestra del total de pacientes.

Tabla 6. Resultados descriptivos para las variables clínicas para la muestra del total de pacientes.

Tabla 7. Resultados descriptivos para las variables relacionadas con el estudio genómico para la muestra del total de pacientes.

Tabla 8. Resultados descriptivos para las variables relacionadas con la evolución para la muestra del total de pacientes.

Tabla 9. Resultados descriptivos para las variables demográficas para la muestra de lesiones precancerosas.

Tabla 10. Resultados descriptivos para las variables etiológicas para la muestra de lesiones precancerosas.

Tabla 11. Resultados descriptivos para las variables clínicas para la muestra de lesiones precancerosas.

Tabla 12. Resultados descriptivos para las variables relacionadas con el estudio genómico para la muestra de lesiones precancerosas.

Tabla 13. Resultados descriptivos para las variables relacionadas con la evolución para la muestra de lesiones precancerosas.

Tabla 14. Resultados descriptivos para las variables demográficas para la muestra de carcinomas epidermoides.

Tabla 15. Resultados descriptivos para las etiológicas para la muestra de carcinomas epidermoides.

Tabla 16. Resultados descriptivos para las variables clínicas para la muestra de carcinomas epidermoides.

Tabla 17. Resultados descriptivos para las variables relacionadas con el tratamiento para la muestra de carcinomas epidermoides.

Tabla 18. Resultados descriptivos para las variables relacionadas con el estudio histológico para la muestra de carcinomas epidermoides.

Tabla 19. Resultados descriptivos para las variables relacionadas con el estudio genómico para la muestra de carcinomas epidermoides.

Tabla 20. Resultados descriptivos para las variables relacionadas con la evolución para la muestra de carcinomas epidermoides

Tabla 21. Asociación entre variables demográficas y mutación (muestra global)

Tabla 22. Asociación entre variables etiológicas y mutación (muestra global)

Tabla 23. Asociación entre variables clínicas y mutación (muestra global)

Tabla 24. Asociación entre variables relacionadas con el estudio genómico y mutación (muestra global)

Tabla 25. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y mutación (muestra global)

Tabla 26. Modelo 1 de regresión multivariante para el riesgo de mutación de PIK3CA

Tabla 27. Modelo 2 de regresión multivariante para el riesgo de mutación de PIK3CA

Tabla 28. Asociación entre variables demográficas y mutación (lesiones precancerosas)

Tabla 29. Asociación entre variables etiológicas y mutación (lesiones precancerosas)

Tabla 30. Asociación entre variables clínicas y mutación (lesiones precancerosas)

Tabla 31. Asociación entre variables relacionadas con el estudio genómico y mutación (lesiones precancerosas)

Tabla 32. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y mutación (lesiones precancerosas)

Tabla 33. Modelo de regresión multivariante para el riesgo de mutación en lesiones precancerosas

Tabla 34. Asociación entre variables demográficas y mutación (carcinomas epidermoides)

Tabla 35. Asociación entre variables etiológicas y mutación (carcinomas epidermoides)

Tabla 36. Asociación entre variables clínicas y mutación (carcinomas epidermoides)

Tabla 37. Asociación entre variables relacionadas con el tratamiento y mutación (carcinomas epidermoides)

Tabla 38. Asociación entre variables relacionadas con el estudio histológico y mutación (carcinomas epidermoides)

Tabla 39. Asociación entre variables relacionadas con el estudio genómico y mutación (carcinomas epidermoides)

Tabla 40. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y mutación (carcinomas epidermoides)

Tabla 41. Modelo 1 de regresión multivariante para el riesgo de mutación en carcinomas epidermoides

Tabla 42. Modelo 2 de regresión multivariante para el riesgo de mutación en carcinomas epidermoides

Tabla 43. Asociación entre variables demográficas y amplificación (muestra global)

Tabla 44. Asociación entre variables etiológicas y amplificación (muestra global)

Tabla 45. Asociación entre variables clínicas y amplificación (muestra global)

Tabla 46. Asociación entre variables relacionadas con el estudio genómico y amplificación (muestra global)

Tabla 47. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y amplificación (muestra global)

Tabla 48. Modelo de regresión multivariante para el riesgo de amplificación para el conjunto total de muestras.

Tabla 49. Asociación entre variables demográficas y amplificación (lesiones precancerosas)

Tabla 50. Asociación entre variables etiológicas y amplificación (lesiones precancerosas)

Tabla 51. Asociación entre variables clínicas y amplificación (lesiones precancerosas)

Tabla 52. Asociación entre variables relacionadas con el estudio genómico y amplificación (lesiones precancerosas)

Tabla 53. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y amplificación (lesiones precancerosas)

Tabla 54. Asociación entre variables demográficas y amplificación (carcinomas epidermoides)

Tabla 55. Asociación entre variables etiológicas y amplificación (carcinomas epidermoides)

Tabla 56. Asociación entre variables clínicas y amplificación (carcinomas epidermoides)

Tabla 57. Asociación entre variables relacionadas con el tratamiento y amplificación (carcinomas epidermoides)

Tabla 58. Asociación entre variables relacionadas con el estudio histológico y amplificación (carcinomas epidermoides)

Tabla 59. Asociación entre variables relacionadas con el estudio genómico y amplificación (carcinomas epidermoides)

Tabla 60. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y amplificación (carcinomas epidermoides)

Tabla 61. Modelo de regresión multivariante para el riesgo de amplificación de PIK3CA en carcinomas epidermoides.

Tabla 62. Asociación entre variables demográficas y mutación o amplificación (muestra global)

Tabla 63. Asociación entre variables etiológicas y mutación o amplificación (muestra global)

Tabla 64. Asociación entre variables clínicas y mutación o amplificación (muestra global)

Tabla 65. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y mutación o amplificación (muestra global)

Tabla 66. Modelo 1 de regresión multivariante para el riesgo de alteraciones PIK3CA (mutación o amplificación) para el conjunto total de las muestras

Tabla 67. Modelo 2 de regresión multivariante para el riesgo de alteraciones PIK3CA (mutación o amplificación) para el conjunto total de las muestras

Tabla 68. Asociación entre variables demográficas y mutación o amplificación (lesiones precancerosas)

Tabla 69. Asociación entre variables etiológicas y mutación o amplificación (lesiones precancerosas)

Tabla 70. Asociación entre variables clínicas y mutación o amplificación (lesiones precancerosas)

Tabla 71. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y mutación o amplificación (lesiones precancerosas)

Tabla 72. Modelo de regresión multivariante para el riesgo de alteraciones PIK3CA (mutación o amplificación) en lesiones precancerosas

Tabla 73. Asociación entre variables demográficas y mutación o amplificación (carcinomas epidermoides)

Tabla 74. Asociación entre variables etiológicas y mutación o amplificación (carcinomas epidermoides)

Tabla 75. Asociación entre variables clínicas y mutación o amplificación (carcinomas epidermoides)

Tabla 76. Asociación entre variables relacionadas con el tratamiento y mutación o amplificación (carcinomas epidermoides)

Tabla 77. Asociación entre variables relacionadas con el estudio histológico y mutación o amplificación (carcinomas epidermoides)

Tabla 78. Asociación entre variables relacionadas con la evolución y mutación o amplificación (carcinomas epidermoides)

Tabla 79. Modelo de regresión multivariante para el riesgo de alteraciones en PIK3CA en carcinomas epidermoides.

Tabla 80. Supervivencia global acumulada.

Tabla 81. Influencia de las variables demográficas sobre la supervivencia global

Tabla 82. Influencia de las variables etiológicas sobre la supervivencia global

Tabla 83. Influencia de las variables clínicas sobre la supervivencia global

Tabla 84. Influencia de las variables relacionadas con el tratamiento sobre la supervivencia global

Tabla 85. Influencia de las variables relacionadas con el estudio histológico sobre la supervivencia global

Tabla 86. Influencia de las variables relacionadas con el estudio genómico sobre la supervivencia global

Tabla 87. Influencia de las variables relacionadas con la evolución sobre la supervivencia global

Tabla 88. Modelo 1 de regresión de Cox multivariante para supervivencia global

Tabla 89. Modelo 2 de regresión de Cox multivariante para supervivencia global

Tabla 90. Supervivencia específica

Tabla 91. Influencia de las variables demográficas sobre la supervivencia específica

Tabla 92. Influencia de las variables etiológicas sobre la supervivencia específica

Tabla 93. Influencia de las variables clínicas sobre la supervivencia específica

Tabla 94. Influencia de las variables relacionadas con el tratamiento sobre la supervivencia específica

Tabla 95. Influencia de las variables relacionadas con el estudio histológico sobre la supervivencia específica

Tabla 96. Influencia de las variables relacionadas con el estudio genómico sobre la supervivencia específica

Tabla 97. Influencia de las variables relacionadas con la evolución sobre la supervivencia específica

Tabla 98. Modelo 1 de regresión de Cox multivariante para supervivencia específica

Tabla 99. Modelo 2 de regresión de Cox multivariante para supervivencia específica

Tabla 100. Supervivencia para recidiva

Tabla 101. Influencia de las variables demográficas sobre la supervivencia recidiva

Tabla 102. Influencia de las variables etiológicas sobre la supervivencia recidiva

Tabla 103. Influencia de las variables clínicas sobre la supervivencia recidiva

Tabla 104. Influencia de las variables relacionadas con el tratamiento sobre la supervivencia recidiva

Tabla 105. Influencia de las variables relacionadas con el estudio histológico sobre la supervivencia recidiva

Tabla 106. Influencia de las variables relacionadas con el estudio genómico sobre la supervivencia recidiva

Tabla 107. Modelo de regresión de Cox multivariante para supervivencia recidiva

Tabla 108. Porcentajes de mutación PIK3CA en carcinomas epidermoides orales publicados en la literatura

Tabla 109. Porcentajes de mutación de PIK3CA en las distintas localizaciones, para el conjunto total de las muestras, lesiones precancerosas y carcinomas epidermoides.

Tabla 110. Porcentajes de amplificación PIK3CA en carcinomas epidermoides orales publicados en la literatura

Tabla 111. Porcentajes de amplificación de PIK3CA en las distintas localizaciones, para el conjunto total de las muestras, lesiones precancerosas y carcinomas epidermoides.

Tabla 112. Porcentaje de alteraciones de PIK3CA (mutación o amplificación) y coexistencia de ambas en las distintas localizaciones en lesiones precancerosas

Tabla 113. Porcentaje de alteraciones de PIK3CA (mutación o amplificación) y coexistencia de ambas en las distintas localizaciones en carcinomas epidermoides





12. ÍNDICE DE FIGURAS





12. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Incidencia y mortalidad de cáncer de labio y cavidad oral en los países europeos (tasa por cada 100.000 habitantes)

Figura 2. Riesgo acumulado de cáncer de labio y cavidad oral en los distintos países de Europa

Figura 3. Riesgo estandarizado por edad de cáncer de labio y cavidad oral en los distintos países de Europa

Figura 4. Incidencia de cáncer de labio y cavidad oral en a nivel mundial (tasa por cada 100.000 habitantes)

Figura 5. Riesgo acumulado de cáncer de labio y cavidad oral a nivel mundial

Figura 6. Riesgo estandarizado por edad de cáncer de labio y cavidad oral a nivel mundial

Figura 7. Incidencia y mortalidad de cáncer de labio y cavidad oral en las distintas regiones del mundo (tasa por cada 100.000 habitantes)

Figura 8. Riesgo acumulado de cáncer de labio y cavidad oral en las distintas regiones del mundo

Figura 9. Riesgo estandarizado por edad de cáncer de labio y cavidad oral en las distintas regiones del mundo

Figura 10. Localizaciones anatómicas dentro de la cavidad oral y la orofaringe

Figura 11. Probabilidad de transformación maligna de las distintas condiciones y lesiones precancerosas

Figura 12. Lesiones precancerosas: leucoplasia

Figura 13. Lesiones precancerosas: eritroplasia

Figura 15. Lesiones precancerosas: leucoplasia verrucosa proliferativa

Figura 15. Lesiones precancerosas: liquen plano

Figura 16. Lesiones precancerosas: queilitis actínica

Figura 17. Formas clinicas: exofítica

Figura 18. Formas clínicas: endofítica

Figura 19. Carcinoma epidermoide bien diferenciado

Figura 20. Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado.

Figura 21. Carcinoma epidermoide pobremente diferenciado.

Figura 22. TC: metástasis cervical de CEO

Figura 23. PET-TAC: captación a nivel local y regional

Figura 24. Pieza de resección tumoral (con mandibulectomía segmentaria) en bloque con vaciamiento cervical bilateral en CE de encía.

Figura 25. Reconstrucción del defecto oncológico debido a CE de encía con colgajo libre osteomiocutáneo de peroné

Figura 26. Distribución del tipo de muestras que formaron parte del estudio

Figura 27. Charlson crudo para el conjunto total de las muestras

Figura 28. Charlson ajustado para el conjunto total de las muestras

Figura 29. Mutación y tipo de mutación encontrada en el total de muestras

Figura 30. Amplificación PIK3CA para el conjunto total de las muestras

Figura 31. Alteraciones PIK3CA (mutación o amplificación) en la muestra global

Figura 32. Coexistencia de mutación y amplificación en la muestra global

Figura 33. Distribución del tipo de lesiones precancerosas

Figura 34. Porcentaje de mutación PIK3CA en el grupo de lesiones precancerosas

Figura 35. Porcentaje de amplificación PIK3CA en el grupo de lesiones precancerosas

Figura 36. Porcentaje de lesiones precancerosas con alteraciones en el gen PIK3CA (mutación o amplificación)

Figura 37. Porcentaje de muestras con mutación y amplificación PIK3CA en el grupo de lesiones precancerosas

Figura 38. Distribución de la edad para los carcinomas epidermoides

Figura 39. Hábito tabáquico en pacientes con carcinoma epidermoide

- Figura 40. Consumo de alcohol en pacientes con carcinoma epidermoide
- Figura 41. Charlson crudo para el grupo de carcinomas epidermoides
- Figura 42. Charlson ajustado para el grupo de carcinomas epidermoides
- Figura 43. Diagrama de barras para la localización en el grupo carcinomas epidermoides
- Figura 44. Afectación de los márgenes (carcinomas epidermoides)
- Figura 45. Grado de diferenciación (carcinomas epidermoides)
- Figura 46. Afectación ganglionar (carcinomas epidermoides)
- Figura 47. Valor T (carcinomas epidermoides)
- Figura 48. Valor N (carcinomas epidermoides)
- Figura 49. Estadiaje tumoral (carcinomas epidermoides)
- Figura 50. Porcentaje de mutaciones PIK3CA en carcinomas epidermoides
- Figura 51. Porcentaje de amplificación PIK3CA en carcinomas epidermoides
- Figura 52. Porcentaje de carcinomas epidermoides con alteraciones PIK3CA (mutación o amplificación)
- Figura 53. Coexistencia de mutación y amplificación en carcinomas epidermoides
- Figura 54. Tipo de recidiva tumoral (carcinomas epidermoides)
- Figura 55. Número de tumores en los pacientes con carcinoma epidermoide
- Figura 56. Supervivencia global acumulada
- Figura 57. Supervivencia específica (muerte por carcinoma epidermoide oral)
- Figura 58. Supervivencia para recidiva
- Figura 59. Distribución de las recidivas en el tiempo
- Figura 60. Función de supervivencia para recidiva en pacientes con y sin amplificación de PIK3CA.







